

Avaliação da Presença de Metais Pesados em Produtos Alimentares em Embalagens Metálicas

Hugo André Pires Afonso

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientadores: Professor Doutor Miguel Pedro de Freitas Barbosa Mourato

Professora Doutora Maria Luísa Louro Martins

Júri:

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutor Miguel Pedro de Freitas Barbosa Mourato, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientador;

Doutora Maria Isabel Nunes Januário, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

AGRADECIMENTOS

Gostaria, antes de mais, de poder expressar o meu profundo agradecimento a todas as pessoas que participaram e ajudaram direta e indiretamente na realização deste trabalho prático e sobretudo na minha formação em Engenharia Alimentar.

Em primeiro lugar, aos professores Miguel Mourato e Luísa Louro por me terem aceite como seu orientando, por toda a atenção, dedicação e paciência em esclarecer todas as dúvidas que lhes colocava. Agradeço também a revisão profunda deste trabalho e toda ajuda com o tratamento de dados e a análise estatística. Obviamente, o agradecimento que lhes faço não se limita apenas a este trabalho, mas também a todo o contributo que tiveram enquanto professores que estiveram presentes em diversas fases do meu curso.

Às professoras Inês Leitão, Joana Sales e Filipa Pinto por toda a ajuda que me prestaram no decorrer do procedimento prático, no laboratório 17A.

À Isabel por ter estado sempre ao meu lado nos momentos bons e menos bons, por todo o apoio, carinho, paciência e constante preocupação. E claro, pela revisão deste trabalho.

À minha família, e sobretudo aos meus pais por terem sempre querido o melhor para mim e por todo o apoio, força e carinho incansáveis.

A todos os amigos e colegas de faculdade que contribuíram para que o meu curso pudesse ter sido levado a “bom porto” e por todos os bons momentos que passamos juntos.

E, por último, a todos os professores e todas as pessoas que se cruzaram na minha vida e que contribuíram para a minha formação.

RESUMO

Na presente dissertação estudou-se a possibilidade de ocorrência de migração de metais pesados (cádmio, cobre, chumbo, estanho, ferro, manganês, níquel e zinco) dos materiais de embalagens metálicas para os alimentos. Para tal, foram estudados quatro alimentos de diferentes naturezas, dois mais ácidos (tomate pelado inteiro e ananás em calda) e dois menos ácidos (ervilhas e grão-de-bico), mantidos em diferentes temperaturas (temperatura ambiente e em estufa a 40°C). A determinação dos teores em metais pesados nos conteúdos das embalagens foi efetuada por ICP-AES, e foi realizada separadamente, no alimento sólido e na calda, sumo ou salmoura, quando aplicável.

Para as determinações analíticas foram consideradas amostras de cada produto em duas condições de armazenamento a temperatura distintas: temperatura ambiente (20 °C aproximadamente) e em estufa a 40 °C durante 58 dias. Foram ainda consideradas 2 possíveis frações de cada produto, a fase líquida e a fase sólida do alimento enlatado.

Os resultados indicaram um aumento dos teores de estanho nas amostras de tomate e de ananás e de ferro nas amostras de tomate e de grão. Foi, então, possível concluir que houve migração de metais pesados da embalagem e que esta foi influenciada pelas condições estudadas, nas situações referidas. Após uma comparação com a legislação e outros dados bibliográficos, concluiu-se que apesar desta ocorrência, os teores dos metais referidos não excedem os limites legislados, nem as doses diárias admissíveis destes elementos minerais.

Palavras-chave: Metais pesados, pH, Temperatura, ICP-AES

ABSTRACT

In the present dissertation the possibility of migration of heavy metals (cadmium, copper, lead, tin, iron, manganese, nickel and zinc) from metal packaging materials to food was studied. For this, four foods of different natures were studied, two more acids (whole peeled tomato and pineapple in syrup) and two less acids (peas and chickpeas), kept at different temperatures (room temperature and oven at 40°C). The determination of the contents of heavy metals in the contents of the packages was carried out by ICP-AES, and was carried out separately, in the solid food and in the syrup, juice or brine, when applicable.

For the analytical determinations, samples of each product were considered under two storage conditions at different temperatures: room temperature (approximately 20 ° C) and oven at 40 ° C for 58 days. It was also considered two possible fractions of each product, the liquid phase and the solid phase of the canned food.

The results indicated an increase in tin content in tomato and pineapple samples, iron in tomato and grain samples, and zinc migration in the solid pea and tomato liquid samples, with increasing temperature. It was then possible to conclude that there was migration of heavy metals from the packaging and that this was influenced by the conditions studied, in the mentioned situations. After a comparison with the legislation and other bibliographic data, it was concluded that despite this occurrence, the contents of the metals mentioned do not exceed the legislated limits nor the daily allowable doses of these mineral elements.

Key-words: Heavy Metals, pH, Temperature, ICP-AES

ÍNDICE GERAL

| | |
|--|-----|
| RESUMO..... | iii |
| ABSTRACT | iv |
| ÍNDICE GERAL | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | vii |
| ÍNDICE DE TABELAS..... | x |
| LISTA DE ABREVIATURAS | xi |
| 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS | 2 |
| 1.2.1. A Indústria de embalagens alimentares | 2 |
| 1.2.1.1. Constituição da folha-de-flandres..... | 2 |
| 1.2.1.2. Vantagens e desvantagens da utilização da folha-de-flandres..... | 4 |
| 1.2.2. Migração de metais pesados para os alimentos..... | 4 |
| 1.2.2.1. Fatores que influenciam a migração..... | 5 |
| 1.2.2.2. Metais pesados das embalagens e consequências do seu consumo... | 5 |
| 1.2.3. Legislação aplicável | 8 |
| 1.2.4. Referência de ingestão alimentar: aplicação das tabelas em estudos nutricionais..... | 11 |
| 1.2.5. Técnicas analíticas - ICP-AES | 13 |
| 1.2.5.1. Fundamentos | 13 |
| 1.2.5.2. Vantagens e desvantagens relativamente a outros métodos | 14 |
| 1.2.6. Caracterização dos elementos minerais nos alimentos em estudo..... | 14 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS | 15 |
| 2.1. Alimentos Embalados | 15 |
| 2.2. Procedimento Analítico | 16 |
| 2.2.1. Esquema Geral do Procedimento Adotado..... | 16 |
| 2.2.2. Colocação das Embalagens em Estufa | 17 |
| 2.2.3. Abertura das embalagens e Separação das amostras sólidas das líquidas..... | 17 |
| 2.2.4.1. Trituração, Pesagem e Secagem | 18 |
| 2.2.4.2. Pesagem para os tubos de digestão | 19 |
| 2.2.4.3. Digestão e leitura do teor em metais pesados no ICP-AES..... | 19 |
| 2.2.5. Amostras líquidas..... | 20 |
| 2.2.5.1. Descongelamento, Centrifugação e Medição de pH | 20 |
| 2.2.5.2. Pesagem para os tubos de digestão..... | 21 |
| 2.2.5.3. Digestão das amostras e leitura no ICP-AES..... | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.3. Análise estatística dos resultados | 21 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 22 |
| 3.1. Metais Pesados em Estudo | 23 |
| 3.1.1. Cádmio | 23 |
| 3.1.2. Chumbo..... | 25 |
| 3.1.3. Cobre | 25 |
| 3.1.4. Crômio..... | 28 |
| 3.1.5. Estanho | 30 |
| 3.1.6. Ferro..... | 33 |
| 3.1.7. Manganês..... | 35 |
| 3.1.8. Níquel | 38 |
| 3.1.9. Zinco | 38 |
| 3.2. Outros elementos analisados | 40 |
| 3.2.1. Elementos com potenciais efeitos benéficos para o metabolismo humano (quando ingeridos nas quantidades recomendadas)..... | 41 |
| 3.2.1.1. Cálcio..... | 41 |
| 3.2.1.2. Enxofre | 42 |
| 3.2.1.3. Fósforo..... | 43 |
| 3.2.1.4. Magnésio | 45 |
| 3.2.1.5. Potássio | 46 |
| 3.2.1.6. Selênio..... | 47 |
| 3.2.1.7. Sódio..... | 47 |
| 3.2.1.8. Vanádio..... | 49 |
| 3.2.2. Elementos causadores de potenciais malefícios para o metabolismo humano..... | 49 |
| 3.2.2.1. Arsênio..... | 49 |
| 3.2.2.2. Bário | 50 |
| 3.2.2.3. Cobalto | 51 |
| 3.2.2.4. Lítio | 51 |
| 4. CONCLUSÕES..... | 52 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 54 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1- Constituição de uma embalagem produzida a partir de folha-de-flandres..... | 3 |
| Figura 2- Esquema ilustrativo do ritmo expectável da migração do estanho para um alimento..... | 3 |
| Figura 3- Exemplo de latas danificadas..... | 5 |
| Figura 4- Esquema representativo de um equipamento que utiliza a técnica ICP-AES.. | 13 |
| Figura 5- Amostras de ervilhas utilizadas no trabalho prático..... | 15 |
| Figura 6- Amostras de grão-de-bico utilizadas no trabalho prático..... | 15 |
| Figura 7- Amostras de ananás em calda utilizado no trabalho prático..... | 15 |
| Figura 8- Amostras de tomate pelado inteiro utilizado no trabalho prático..... | 15 |
| Figura 9- Esquema geral do procedimento que foi utilizado no presente trabalho prático..... | 16 |
| Figura 10- Interior da estufa, onde se pode observar as doze latas que foram colocadas..... | 17 |
| Figura 11- Estufa utilizada para a colocação das embalagens..... | 17 |
| Figura 12- Exemplo de uma referência atribuída a uma amostra, com a demonstração gráfica do significado da mesma..... | 18 |
| Figura 13- Amostras devidamente preparas, colocadas nos pesa filtros e prontas a seguirem para estufa..... | 18 |
| Figura 14- Amostras colocadas em pesa filtros, na estufa após a pesagem..... | 18 |
| Figura 15- Amostras tapadas em pesa filtros, após terem sido retiradas da estufa, para evitar o aumento do teor de humidade..... | 19 |
| Figura 16- Placa de aquecimento do digestor, onde se pode também observar os tubos de digestão com as amostras..... | 20 |
| Figura 17- Medidor de pH utilizado no presente trabalho prático..... | 20 |
| Figura 18- Centrifugadora utilizada para a separação da parte líquida das amostras... | 20 |
| Figura 19- Concentrações de cádmio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 23 |
| Figura 20- Concentrações de cobre detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 25 |
| Figura 21- Concentrações de cobre detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 26 |
| Figura 22- Concentrações de crómio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 28 |

| | |
|---|----|
| Figura 23- Concentrações de estanho detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 30 |
| Figura 24- Concentrações de estanho detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 30 |
| Figura 25- Concentrações de ferro detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 33 |
| Figura 26- Concentrações de ferro detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 33 |
| Figura 27- Concentrações de manganês detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 36 |
| Figura 28- Concentrações de manganês detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 36 |
| Figura 29- Concentrações de zinco detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 38 |
| Figura 30- Concentrações de zinco detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 39 |
| Figura 31- Concentrações de cálcio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 41 |
| Figura 32- Concentrações de cálcio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 41 |
| Figura 33- Concentrações de enxofre detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 42 |
| Figura 34- Concentrações de enxofre detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 43 |
| Figura 35- Concentrações de fósforo detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 44 |
| Figura 36- Concentrações de fósforo detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 44 |
| Figura 37- Concentrações de magnésio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 45 |
| Figura 38- Concentrações de magnésio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 45 |
| Figura 39- Concentrações de potássio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 46 |
| Figura 40- Concentrações de potássio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 46 |
| Figura 41- Concentrações de sódio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 48 |
| Figura 42- Concentrações de sódio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 48 |

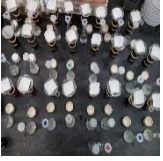
| | |
|---|----|
| Figura 43- Concentrações de arsénio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 50 |
| Figura 44- Concentrações de bário detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C..... | 50 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Teores máximos de Pb em produtos alimentares referidos para o chumbo no Regulamento CE nº 1881/2006..... | 9 |
| Tabela 2- Teores máximos de Cd em produtos alimentares referidos para o cádmio no Regulamento CE nº 1881/2006..... | 10 |
| Tabela 3- Teores máximos de Sn em produtos alimentares referidos para o estanho no Regulamento CE nº 1881/2006..... | 11 |
| Tabela 4- Composição mineral dos quatro alimentos em estudo neste trabalho..... | 14 |
| Tabela 5- Valores médios de pH das amostras líquidas e de Humidade das amostras sólidas.. | 22 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- **AI** – Ingestão Adequada (Adequate Intake);
- **ADI** – Consumo diário aceitável (Acceptable daily intake);
- **ATP** – Adenosina Trifosfato;
- **DNA** – Ácido Desoxirribonucleico;
- **EAR** – Necessidade média estimada (Estimated Average Requirement);
- **ICP-AES** - Espectroscopia de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectroscopy);
- **LQ** – Limite de Quantificação;
- **RDA** – Consumo Alimentar Recomendado (Recommended Dietary Allowances);
- **TDI** – Dose diária tolerável (tolerable daily intake);
- **TWI** – Dose semanal tolerável (tolerable weakly intake);
- **PTWI** – Dose semanal previsivelmente tolerável (Provisional tolerable weekly intake);
- **UL** – Nível Máximo de Ingestão Tolerado (Tolerable Upper Intake Level).



INTRODUÇÃO E OBEJTIVOS

“Ou escreves algo que valha a pena ler, ou fazes algo acerca do qual valha a pena escrever”

BENJAMIN FRANKLIN

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. Objetivos

A presente dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar possui como principal objetivo a avaliação da ocorrência de migração de metais pesados dos materiais de embalagens metálicas para os alimentos, quando sujeitas a duas temperaturas diferentes (ambiente e 40 °C).

Pretende-se avaliar os teores de cádmio, cobre, chumbo, crómio, estanho, ferro, manganês, níquel e zinco, no conteúdo das embalagens e com estes resultados efetuar-se uma comparação com as doses diárias recomendadas para os diversos grupos etários, recorrendo aos valores de Padovani et al. (2006) , bem como uma comparação com os valores esperados dos respetivos metais nos alimentos em análise, com base nos dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, 2015) e com Regulamento CE nº 1881/2006 (Secção 3 do anexo).

1.2. Introdução

1.2.1. A Indústria de embalagens alimentares

A indústria do embalamento alimentar é uma atividade muito importante no setor alimentar. As embalagens metálicas representam apenas uma pequena parte de todo o universo de embalagens para uso alimentar (cerca de 19%), sendo que existem muitos outros materiais de embalagem como o plástico, que é o mais utilizado (cerca de 38% de todo o material de embalagem utilizado) e o vidro (que é o menos utilizado, com apenas 8%) (Kassoufa et al., 2013).

Dentro de todo o conjunto de embalagens metálicas, estas são na sua maioria constituídas por folha-de-flandres, podendo também existir embalagens fabricadas a partir ferro ou ligas de alumínio.

1.2.1.1. Constituição da folha-de-flandres

As embalagens constituídas por folha-de-flandres são fabricadas a partir de aço com revestimento de estanho ou crómio, em que o aço confere resistência e maleabilidade e o estanho ou crómio têm a função de evitar a corrosão. São também utilizados vernizes para a proteção das embalagens.

De modo a garantir uma boa qualidade da folha-de-flandres é necessário algum cuidado com a presença de óxidos de estanho na camada de superfície e com as

condições das camadas que não estão em contacto com os alimentos. A presença deste óxido pode alterar a aparência da folha, a soldabilidade e a capacidade de ser revestido com filmes orgânicos, constituindo um componente muito importante na proteção contra a migração dos metais pesados da embalagem para os alimentos (Kunst et al., 2016).

A figura 1 expressa de um modo mais detalhado a estrutura do revestimento existente numa embalagem produzida a partir de folha-de-flandres.

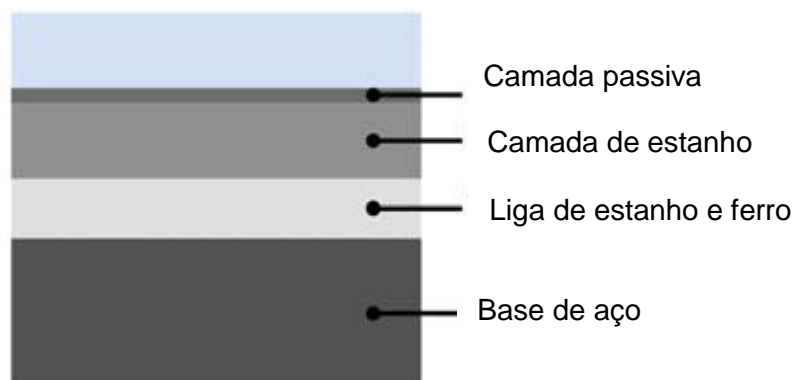


Figura 1- Constituição da folha-de-flandres

Fonte: Adaptado de Ciazzo et al, 2017.

Uma das possíveis interações entre a embalagem e o alimento é a dissolução e migração do estanho. Esta ocorre muito lentamente, normalmente a um ritmo de 3 a 4 mg/kg num mês, sendo que a legislação aplicável (Regulamento CE nº 1881/2006) estabelece que o teor máximo desta migração é 200 mg/kg de alimento. A figura 2, expressa de uma forma um pouco mais detalhada o ritmo da migração expectável do estanho para o alimento (Alves, 2016), onde se observa uma primeira fase com um ritmo mais intenso, sendo que este vai diminuindo ao longo do tempo de armazenamento.

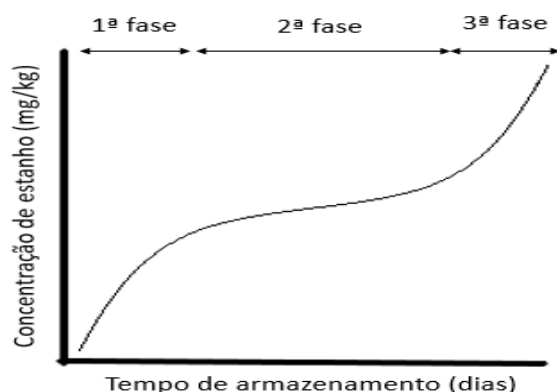


Figura 2- Esquema ilustrativo do ritmo expectável da migração do estanho para um alimento.

Fonte: Adaptado de Alves, 2016.

O estanho é utilizado pela proteção que confere ao aço contra a corrosão, dado que o aço pode causar a perda da integridade da embalagem, originar características organoléticas desagradáveis e a descoloração do produto. Por outro lado, o estanho também promove um ambiente redutor, havendo consumo do oxigénio residual da embalagem, evitando possíveis reações de oxidação, conservando os alimentos.

Por último, a utilização dos vernizes prende-se com a proteção que conferem à camada de estanho, o reforço que confere à embalagem e à migração dos metais pesados e por outro lado, cria uma barreira aos gases que poderão potenciar reações degradativas aos alimentos (Alves, 2016).

1.2.1.2. Vantagens e desvantagens da utilização da folha-de-flandres

A utilização deste material pela indústria alimentar apresenta diversas vantagens como constituir uma boa barreira à luz, permitir a manutenção das propriedades químicas e físicas dos alimentos por longos períodos de tempo, resistir a choques físicos e altas temperaturas e a possibilidade de ser reciclável (Kassoufa, 2013).

Por outro lado, a grande desvantagem da utilização de uma embalagem deste tipo é a possibilidade de ocorrência de migração dos metais pesados que constituem as suas camadas metálicas. Quando existem grandes quantidades de estanho e ferro, por exemplo, estes podem representar um risco para a saúde dos consumidores, existindo indícios que o consumo de alimentos ou bebidas com concentrações de estanho acima dos 200 mg/kg pode causar febre, dor de cabeça, náuseas, vômitos e distúrbios gastrointestinais (Veríssimo et al., 2015).

1.2.2. Migração de metais pesados para os alimentos

A constituição de uma embalagem fabricada a partir de folha-de-flandres pressupõe alguma inercia nas trocas entre a embalagem e o alimento. Contudo, quando as camadas dos diversos metais não estão devidamente compactadas, ou existe alguma descontinuidade, estas podem ficar expostas aos compostos mais ácidos dos alimentos. Por exemplo, os alimentos ácidos podem acelerar a corrosão destes metais e por conseguinte, os elementos metálicos referidos podem ser libertados para os alimentos embalados. Quando esta situação ocorre em níveis elevados nos alimentos, os metais podem causar alterações organoléticas, ou atingirem níveis causadores de riscos toxicológicos ao consumidor (Kassoufa, 2013)

1.2.2.1. Fatores que influenciam a migração

A migração dos elementos metálicos para o alimento pode ser influenciada por diversos fatores, como a temperatura de armazenamento, a data de validade (e consequentemente o “afastamento” da data de produção) e as condições de integridade da embalagem.

Segundo Veríssimo et al. (2015) o teor em ferro permanece constante em latas intactas, enquanto que em latas danificadas, como a que está representada na figura 3, a concentração do mesmo sobe a um ritmo muito elevado à temperatura ambiente, mas caso estejam refrigeradas o processo de migração pode ser retardado.



Figura 3- Exemplo de latas danificadas.

Fonte: Dantas et al, 2011.

Os mesmos autores concluem igualmente que existe um risco elevado de consumo de alimentos embalados em latas danificadas, especialmente quando estas não estão refrigeradas, visto que nesse tipo de ambiente a corrosão das embalagens ocorre mais lentamente e a consequente migração de metais pesados também.

1.2.2.2. Metais pesados das embalagens e consequências do seu consumo

Como referido no ponto 1.2.2, a migração de metais pesados do material de embalagem para os alimentos, pode ter consequências distintas, desde uma simples alteração organolética do alimento até mesmo resultarem num risco toxicológico para o consumidor. Deste modo, é possível perceber quais os efeitos adversos que cada elemento pode causar.

O cádmio é um elemento tóxico que no organismo causa problemas de saúde diversos, resultantes de uma toxicidade crónica que se caracteriza por uma acumulação essencialmente no fígado, rins e ossos e que pode causar dores ósseas, cancro do pulmão ou até mesmo a formação de enfisema pulmonar, que causa uma oxigenação insuficiente das células. Pode ser ingerido diretamente, por exemplo, pela ingestão de água contaminada através do contacto com materiais que contenham este elemento, ou por outro lado, quando entra em contacto com resíduos químicos. Também pode ser ingerido indiretamente através de alimentos contaminados como os tubérculos, que se forem produzidos em solos potencialmente contaminados ou regados com água contaminada podem acumular este metal pesado e logo levar ao seu consumo, quando este é ingerido pelo consumidor. Outra particularidade do cádmio, é que a planta do tabaco pode conter este metal e quando um fumador consome este produto está a inalar cádmio e a transmiti-lo a todos os que estão ao seu redor, podendo o fumador consumir até duas vezes mais cádmio do que os não fumadores (EFSA, 2006).

O chumbo é um elemento neurotóxico, pelo que por intoxicação por chumbo é o sistema nervoso central o principal órgão afetado. Contudo, pode também atingir outros órgãos e sistemas, podendo causar problemas a nível renal, cardiovascular e alterar os níveis de vitamina D no corpo. Em crianças com idade inferior a 5 anos pode mesmo causar lesões cerebrais mais graves que as descritas, mas em todos os casos a maioria dos efeitos são resultado de uma toxicidade crónica (Ahamed et al, 2007). A exposição do chumbo pelo consumidor através do consumo de alimentos, está muito associado à utilização de solos previamente contaminados na produção de géneros alimentícios e que podem ter resultado das concentrações elevadas em chumbo presentes na atmosfera que existia há algumas décadas.

Os principais problemas associados a uma exposição excessiva ao crómio, prendem-se com problemas respiratórios, especialmente associado a irritações das mucosas (Costa et al, 2008). Por outro lado, a exposição a níveis elevados de crómio e sejam causadores de uma toxicidade aguda, origina pancreatites e hemorragias nos intestinos, podendo causar a morte do consumidor. Apesar de rara, a ingestão deste metal pesado pode ser feita através do consumo de água contaminada (EFSA, 2006).

O principal risco no consumo de estanho, é que este poderá possuir quantidades variáveis de chumbo, sendo que este elemento tem os efeitos adversos descritos anteriormente (Magloff, 2017), sendo que o organismo humano tem a capacidade de eliminar 98% do estanho ingerido (EFSA, 2006). Quando ocorre um consumo de

alimentos que contenham um teor elevado em estanho, ocorrendo episódios de toxicidade crónica, observaram-se efeitos adversos como náuseas, vômitos e outros sintomas gastrointestinais. Nos casos em que ocorreu toxicidade crónica observam-se efeitos adversos semelhantes aos da toxicidade aguda (Blunden et al, 2003).

O ferro em excesso, em crianças, afeta o crescimento, causa diarreia e problemas com o desenvolvimento motor e cognitivo (Bo Lönnerdal, 2017). É um elemento essencial para os seres humanos, pois está presente na maioria dos processos metabólicos, incluindo transporte de oxigénio, síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), entre outros. Quando está presente em quantidades elevadas, pode levar a danos nos tecidos vivos, existindo estudos que apontam para possíveis doenças neurodegenerativas (Abbaspour et al., 2014). O teor em ferro nos alimentos pode variar em função do solo, do clima e do processamento. Tipicamente, alimentos como as leguminosas, cereais, produtos lácteos, entre outros possuem teores de ferro necessários à manutenção das funções celulares (EFSA, 2006).

O manganês é um elemento essencial à atividade de algumas enzimas. Mas, quando está presente numa dose excessiva, os efeitos tóxicos são sentidos ao nível do sistema nervoso central, respiratório, cardiovascular e reprodutor. Os efeitos neurológicos sentidos são fraqueza, anorexia, dor muscular, apatia, fala lenta sem inflexão, sem emoção e uma expressão facial e lento movimento desajeitado dos membros. Em geral, esses efeitos são irreversíveis (EFSA, 2006). A água contaminada é a forma mais frequente de uma intoxicação alimentar por manganês.

O níquel causa sobretudo alergias e inflamações a nível cutâneo (Chaves, 2016). Contudo, após o consumo de água contaminada com sulfato de níquel, foi observado surgimento de alguns sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, vertigem, cansaço, dores de cabeça, tosse e falta de ar e à semelhança com o que foi referido na bibliografia anterior, sintomas de dermatite cutânea (EFSA, 2006).

O excesso de zinco na alimentação pode causar um sabor metálico na boca, dores de cabeça, vômitos e diarreia. Níveis elevados deste metal podem também reduzir a eficácia de antibióticos e de outros medicamentos, bem como uma diminuição do olfato (Milner, 2015). Apesar de raros, podem ocorrer casos de toxicidade aguda de zinco, resultantes da conservação de alimentos em embalagens que contenham este metal pesado e os principais efeitos adversos observados são os que foram descritos mais acima. Nos casos de toxicidade crónica, podem ser observados efeitos de

alterações fisiológicas, como a anemia e a redução da atividade das enzimas que contém cobre na sua constituição (EFSA, 2006).

1.2.3. Legislação aplicável

Até à data em que este trabalho foi redigido, o único regulamento que aborda o tema principal deste trabalho é o Regulamento CE nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. A secção 3 do anexo estabelece os teores máximos de alguns metais pesados. Nas tabelas 1, 2 e 3 estão expressos os valores gerais que o regulamento estabelece para o chumbo, cádmio e estanho, respetivamente.

Este refere que os teores máximos de chumbo encontrados nos alimentos não deverão exceder os 0,10 mg/kg para o caso do ananás e do tomate pelado inteiro e os 0,20 mg/kg para as ervilhas e o grão-de-bico. Já no caso do estanho, estes valores são de 200 mg/kg para os quatro alimentos em questão. Por último, no caso do cádmio, considera-se para o grão-de-bico 0,10 mg/kg e para os restantes alimentos 0,05 mg/kg. Todos os valores indicados têm por base peso fresco do produto alimentar.

Tabela 1- Teores máximos de Pb em produtos alimentares referidos para o chumbo no Regulamento CE nº 1881/2006.

| Géneros Alimentícios | Teores máximos (mg/kg de peso fresco) |
|--|--|
| Leite cru, leite tratado termicamente e leite para o fabrico de produtos lácteos | 0,020 |
| Fórmulas para lactentes e fórmulas de transição | 0,020 |
| Carne (com exceção de miudezas) de bovino, ovino, suíno e aves de capoeira | 0,10 |
| Miudezas de bovino, ovino, suíno e aves de capoeira | 0,50 |
| Parte comestível do peixe | 0,30 |
| Crustáceos, excluindo a carne escura de caranguejo e excluindo a carne de cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Nephropidae</i> e <i>Palinuridae</i>) | 0,50 |
| Moluscos bivalves | 1,5 |
| Cefalópodes (sem vísceras) | 1,0 |
| Cereais, legumes e leguminosas | 0,20 |
| Produtos hortícolas, com exceção de brássicas, produtos hortícolas de folha, plantas aromáticas frescas e cogumelos. No caso das batatas, o teor máximo aplica-se a batatas descascadas. | 0,10 |
| Brássicas, produtos hortícolas de folha e cogumelos de cultura | 0,30 |
| Frutos, com exceção de bagas e frutos pequenos | 0,10 |
| Bagas e frutos pequenos | 0,20 |
| Óleos e gorduras, incluindo a matéria gorda do leite | 0,10 |
| Sumos de frutos, sumos de frutos concentrados reconstituídos e néctares de frutos | 0,050 |
| Vinho (incluindo vinho espumante, com exceção do vinho licoroso), sidra, perada e vinho de frutos | 0,20 |
| Vinho aromatizado, bebidas aromatizadas à base de vinho e cocktails aromatizados de produtos vitivinícolas | 0,20 |

Fonte: Regulamento CE nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006 (secção 3 do anexo).

Tabela 2- Teores máximos de Cd em produtos alimentares referidos para o cádmio no Regulamento CE nº 1881/2006.

| Géneros Alimentícios | Teores máximos (mg/kg de peso fresco) |
|---|--|
| Carne (com exceção de miudezas) de bovino, ovino, suíno e aves de capoeira | 0,050 |
| Carne de cavalo, com exceção de miudezas | 0,20 |
| Fígado de bovinos, ovinos, suínos, aves de capoeira e equídeos | 0,50 |
| Rim de bovinos, ovinos, suínos, aves de capoeira e equídeos | 1,0 |
| Parte comestível do peixe (24) (25), com exceção das espécies referidas nos pontos 3.2.6 e 3.2.7 | 0,050 |
| Parte comestível dos seguintes peixes (24) (25): biqueirão (<i>Engraulis species</i>) bonito (<i>Sarda</i>) sargo-safia (<i>Diplodus vulgaris</i>) enguia (<i>Anguilla</i>) tainha-negrão (<i>Mugil labrosus</i>) chicharro ou carapau (<i>Trachurus species</i>) boquinho (<i>Luvarus imperialis</i>) sardinha (<i>Sardina pilchardus</i>) sardinops (<i>Sardinops species</i>) atuns (<i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i>) língua (<i>Dicologlossa cuneata</i>) | 0,10 |
| Parte comestível de espadarte (<i>Xiphias gladius</i>) | 0,30 |
| Crustáceos, com exceção da carne escura de caranguejo e da carne da cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Nephropidae</i> e <i>Palinuridae</i>) | 0,50 |
| Moluscos bivalves | 1,0 |
| Cefalópodes (sem vísceras) | 1,0 |
| Cereais, com exceção de sêmea, gérmen, trigo e arroz | 0,10 |
| Sêmea, gérmen, trigo e arroz | 0,20 |
| Grãos de soja | 0,20 |
| Produtos hortícolas e frutos, com exceção de produtos hortícolas de folha, plantas aromáticas frescas, cogumelos, produtos hortícolas de caule, pinhões, raízes e batatas | 0,050 |
| Produtos hortícolas de folha, plantas aromáticas frescas, cogumelos de cultura e aipos | 0,20 |
| Produtos hortícolas de caule, raízes e batatas, com exceção de aipo-rábano. No caso das batatas, o teor máximo aplica-se a batatas descascadas. | 0,10 |

Fonte: Regulamento CE nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006 (secção 3 do anexo).

Tabela 3- Teores máximos de Sn em produtos alimentares referidos para o estanho no Regulamento CE nº 1881/2006.

| Géneros Alimentícios | Teores máximos (mg/kg de peso fresco) |
|---|---------------------------------------|
| Géneros alimentícios enlatados, com exceção de bebidas | 200 |
| Bebidas em lata, incluindo sumos de frutos e de produtos hortícolas | 100 |
| Alimentos para bebés e alimentos à base de cereais transformados em lata destinados a lactentes e crianças jovens, com exceção de produtos desidratados e em pó | 50 |
| Fórmulas para lactentes em lata e fórmulas de transição em lata (incluindo leite para bebés e leite de transição), com exceção de produtos desidratados e em pó | 50 |
| Alimentos dietéticos em lata destinados a fins medicinais específicos especificamente destinados a lactentes, com exceção de produtos desidratados e em pó | 50 |

Fonte: Regulamento CE nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006 (secção 3 do anexo).

1.2.4. Referência de ingestão alimentar: aplicação das tabelas em estudos nutricionais

Existem valores de referência para a ingestão de alguns nutrientes e que são adotados pelos Estados Unidos e pelo Canadá (Padovani, et al. 2006).

Existem quatro categorias de valores de referência. A primeira é a *Estimated Average Requirement* (EAR), sendo que esta é uma mediana das necessidades de um determinado nutriente num grupo de indivíduos saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, respondendo às necessidades de 50% da população.

A segunda categoria é *Recommended Dietary Allowances* (RDA) e a diferença desta para a anterior é que contempla as necessidades de 97 a 98% de uma população do mesmo sexo e faixa etária.

A seguinte é a *Adequate Intake* (AI), sendo esta o valor de consumo recomendável. Este valor é baseado em aproximações a dados experimentais, ou estimativas de dados de ingestão de nutrientes para grupos de pessoas saudáveis. É utilizado quando os valores de EAR, ou RDA não podem ser determinados, apesar da incerteza associada a este valor ser superior aos outros dois referidos.

Por último, a *Tolerable Upper Intake Level* (UL) é o valor mais elevado de ingestão de um nutriente, sem causar efeitos adversos, em praticamente toda a população do mesmo sexo e faixa etária.

Para além destes quatro parâmetros descritos, existem ainda outros que podem ser utilizados como índices de toxicidade. Exemplo disso são o ADI (*acceptable daily intake*), que expressa o nível seguro de ingestão diária de um determinado nutriente ou aditivo, o TDI (*tolerable daily intake*) e que expressa a dose diária de consumo que é tolerável ao organismo, o TWI (*tolerable weekly intake*) que tem um conceito muito semelhante a TDI, com a exceção de que se refere a doses semanais de consumo e não diárias e o PTWI (*provisional tolerable weekly intake*), que apesar de ser um conceito muito semelhante a TWI, a diferença reside no facto de alguns compostos são eliminados do organismo muito rapidamente, sendo mais adequado fazer uma previsão sobre um consumo semanal tolerado (Younes, 1999).

É de notar que os conceitos que foram referidos ao longo do parágrafo anterior são muito semelhantes aos outros quatro que foram explicados mais atrás. Contudo, existem algumas diferenças, por exemplo, todos os conceitos referidos no parágrafo anterior dizem respeito a doses máximas / seguras admissíveis sem que sejam detetados riscos para o consumidor (quer sejam diárias ou semanais). Por outro lado, os conceitos RDA e EAR, abrem um pouco mais o espectro da forma como se pode considerar o consumo de determinados nutrientes, ou seja, não se está apenas focado no problema do consumo máximo, mas também se pode verificar que em determinadas quantidades, ainda que muito pequenas, existem nutrientes que são importantes para o normal funcionamento do organismo humano.

Quando se efetua uma avaliação de metais pesados na dieta de um indivíduo, deve ter-se em conta os valores de EAR e UL. Os valores de RDA e AI, são utilizados apenas como uma “meta” para a ingestão de determinados nutrientes. Contudo, estes valores estão sujeitos a falhas, devido aos diversos padrões de consumo dos diferentes tipos de consumidor.

1.2.5. Técnicas analíticas - ICP-AES

1.2.5.1. Fundamentos

O método ICP-AES (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectroscopy) é um tipo de espectroscopia de emissão atômica que é frequentemente utilizada para detectar a presença de metais numa determinada amostra.

Através de um plasma indutivo de árgon, o equipamento tem a capacidade de produzir iões e átomos excitados que, ao regressarem ao estado fundamental, vão emitir radiação em comprimentos de onda específicos, que são previamente conhecidos, sendo por isso possível identificar o elemento em estudo e com o recurso a uma reta de calibração é possível a sua quantificação (Melville, 2014).

As diferentes aplicações deste método estão relacionadas com as elevadas temperaturas produzidas pelo plasma, capaz de atomizar e excitar a maioria dos elementos químicos da tabela periódica, visto que o plasma de árgon utilizado pelo equipamento está a uma temperatura entre os 8000 e os 9000 °C. A figura 4 esquematiza um exemplo de um equipamento que utiliza este método.

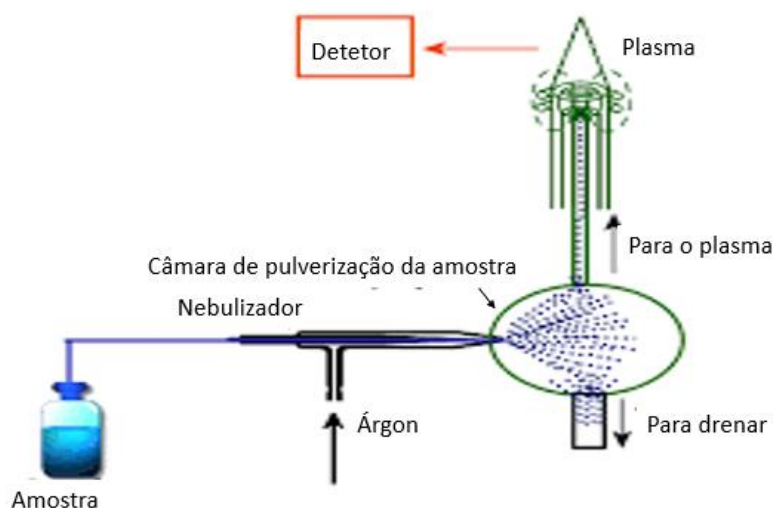


Figura 4- Esquema representativo de um equipamento que utiliza a técnica ICP-AES.

Fonte: Adaptado de Chemiasoft, 2014.

1.2.5.2. Vantagens e desvantagens relativamente a outros métodos

As vantagens associadas à utilização deste método prendem-se com as altas temperaturas utilizadas, produzindo uma atomização completa das amostras, existindo uma baixa taxa de ionização, devido à constituição do plasma que é rico em eletrões e que, portanto, reprime a ionização.

A outra grande vantagem deste método é que permite a análise de um grande número de elementos em simultâneo e apesar de ser necessária uma curva de calibração para a quantificação dos elementos, o equipamento tem a capacidade de calcular automaticamente, tornando-se, então, num método mais eficiente ao nível do tempo despendido para a elaboração das análises.

A grande desvantagem deste método são os custos. Estes são bastante elevados, desde a aquisição do equipamento, à sua manutenção e também pela utilização do plasma de árgon, visto que este gás, de elevada pureza, é bastante dispendioso também.

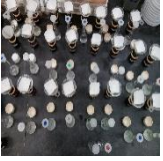
1.2.6. Caracterização dos elementos minerais nos alimentos em estudo

Efetuuou-se um breve estudo da composição mineral expectável dos alimentos embalados em estudo, ou seja, do ananás em calda, do tomate pelado inteiro, das ervilhas e do grão-de-bico, recorrendo aos dados que constam no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, 2015). Na tabela 4 é apresentada a composição mineral presente nas ervilhas, tomate pelado inteiro, grão-de-bico e ananás em calda, por 100 gramas de alimento.

Tabela 4- Composição mineral dos quatro alimentos em estudo neste trabalho.

Fonte: Adaptado de INSA, 2015.

| Minerais | Ervilhas | Tomate | Grão | Ananás |
|---------------|----------|--------|--------|--------|
| Cinza | 0,66 g | 0,76 g | 1,50 g | 0,34 g |
| Sódio (Na) | 110 mg | 29 mg | 250 mg | 2 mg |
| Potássio (K) | 330 mg | 270 mg | 270 mg | 110 mg |
| Cálcio (Ca) | 37 mg | 10 mg | 46 mg | 17 mg |
| Fósforo (P) | 68 mg | 25 mg | 83 mg | 5 mg |
| Magnésio (Mg) | 21 mg | 11 mg | 39 mg | 11 mg |
| Ferro (Fe) | 1,1 mg | 0,6 mg | 2,1 mg | 0,3 mg |
| Zinco (Zn) | 0,4 mg | 0,3 mg | 1,2 mg | 0,1 mg |



MATERIAL E MÉTODOS

"A ciência é constituída por erros, que por sua vez são os passos para a verdade"

JULES VERNE

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Alimentos Embalados

Para a realização deste trabalho prático foram utilizados quatro alimentos enlatados, ervilhas, tomate pelado inteiro, grão-de-bico e ananás em calda. Para cada alimento foram adquiridas seis embalagens metálicas não danificadas, com os mesmos lotes e datas de fabrico, em que três delas estiveram à temperatura ambiente e as restantes três estiveram em estufa a 40 °C, durante 58 dias.

A utilização de condições diferentes no que respeita à temperatura destina-se a avaliar de que forma este parâmetro pode influenciar a migração dos metais pesados presentes nos materiais da embalagem para o produto. O facto de termos alimentos de diferente natureza e com diferentes composições químicas, designadamente a acidez, pode determinar comportamentos diferentes no que respeita ao comportamento dos metais pesados da embalagem.



Figura 5- Amostras de ervilhas utilizadas no trabalho prático.



Figura 6- Amostras de grão-de-bico utilizadas no trabalho prático.



Figura 7- Amostras de ananás em calda utilizado no trabalho prático



Figura 8- Amostras de tomate pelado inteiro utilizado no trabalho prático.

2.2. Procedimento Analítico

2.2.1. Esquema Geral do Procedimento Adotado

De modo a sintetizar o procedimento analítico que foi adotado no decorrer deste trabalho prático, foi elaborado o esquema da figura 9.

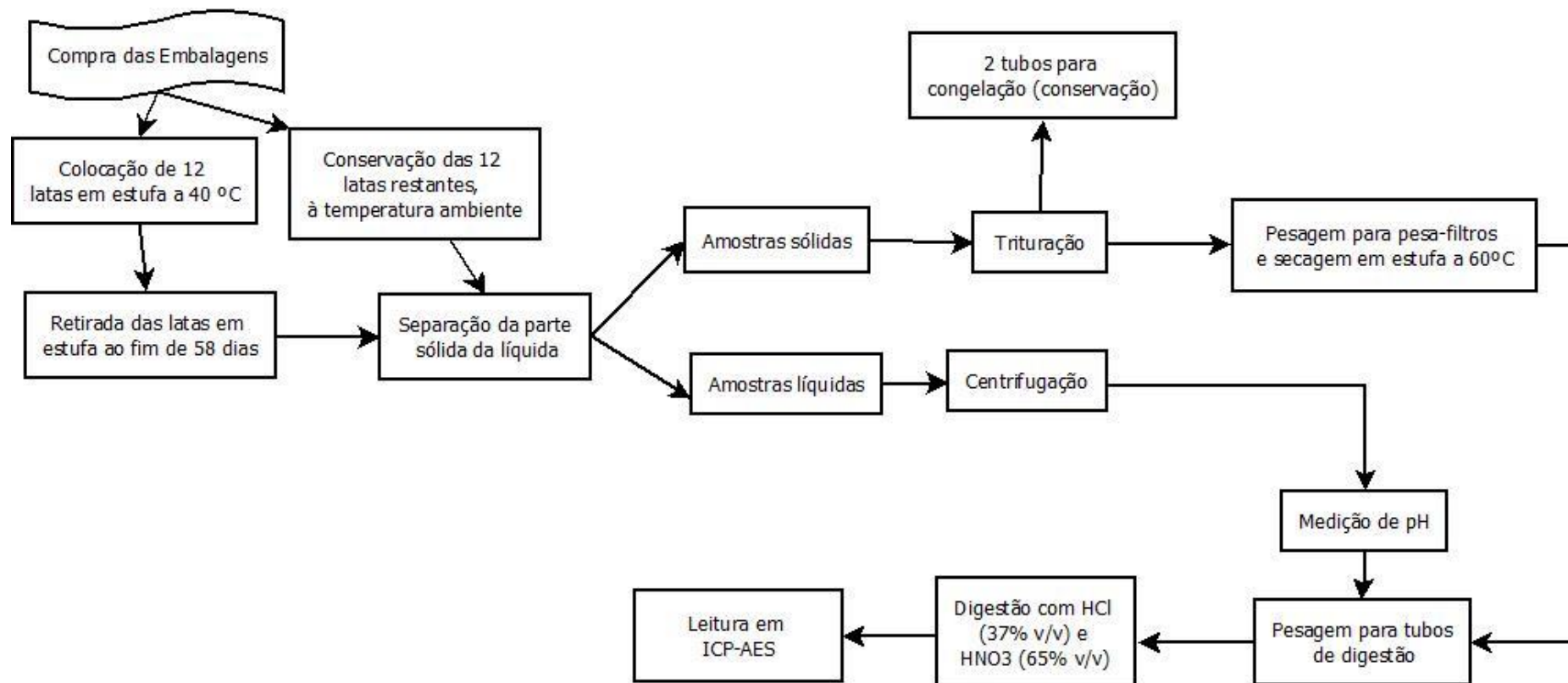


Figura 9- Esquema geral do procedimento que foi utilizado no presente trabalho prático.

2.2.2. Colocação das Embalagens em Estufa

Como referido em 2.1, foram colocadas três embalagens de cada alimento numa estufa a 40 °C (figuras 10 e 11). As embalagens foram colocadas a 20 de dezembro de 2017 e retiradas a 15 de fevereiro de 2018, o que fez um total de 58 dias nestas condições.



Figura 10- Interior da estufa, onde se pode observar as doze latas que foram colocadas.



Figura 11- Estufa utilizada para a colocação das embalagens.

2.2.3. Abertura das embalagens e Separação das amostras sólidas das líquidas

A primeira etapa do procedimento analítico foi a abertura das latas que estiveram à temperatura ambiente. Recorrendo a um funil de Buchner, separou-se a parte sólida das amostras da parte líquida. No caso das ervilhas enlatadas utilizaram-se os grãos de ervilhas como amostras sólidas e a salmoura foi considerada como amostras líquidas. O objetivo desta separação foi uma leitura separada destas amostras e perceber se existiam diferenças no teor de metais pesados, visto que em princípio o líquido esteve em contacto mais direto com o material de embalagem do que a amostra sólida e possui uma composição distinta.

Após a conclusão deste passo, retiraram-se as latas que estavam na estufa e repetiu-se o procedimento anteriormente referido.

Como referido em 2.1, foram utilizadas três latas para cada alimento, a cada temperatura e em cada lata foram efetuados duplicados, denominados A e B.

A cada amostra foi atribuída uma referência específica, com base no alimento, se era uma amostra sólida ou líquida, se esteve à temperatura ambiente ou a 40 °C, com base no número da embalagem (1, 2, ou 3) e se era o duplicado A ou B. A figura 12, esquematiza um exemplo de uma referência atribuída a uma amostra utilizada neste trabalho.

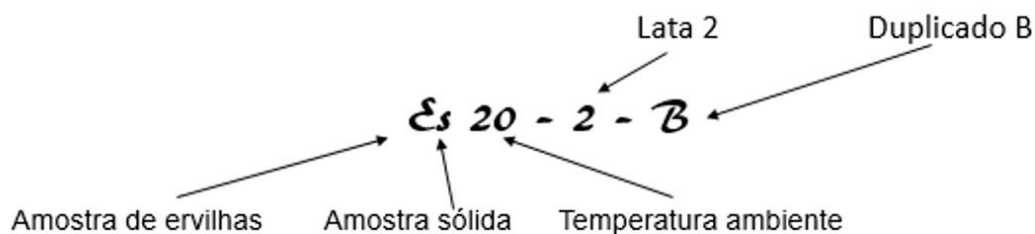


Figura 12- Exemplo de uma referência atribuída a uma amostra, com a demonstração gráfica do significado da mesma.

2.2.4. Amostras sólidas

2.2.4.1. Trituração, Pesagem e Secagem

A parte sólida das amostras foi triturada, até se obter uma textura e consistência homogêneas, colocando-se uma pequena quantidade de amostra em pesa filtros, com a devida referência das amostras e uma outra parte foi congelada para ser utilizada em caso de necessidade.

A amostras foram, então, pesadas e colocadas em estufa a 60 °C, durante um mínimo de 48 horas, até peso constante, de modo a que secassem e que as determinações analíticas fossem efetuadas com base no peso seco (figuras 13 e 14).



Figura 13- Amostras colocadas em pesa filtros, na estufa após a pesagem.

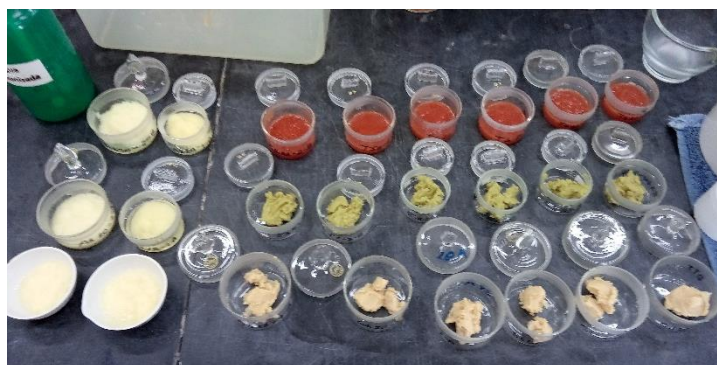


Figura 14- Amostras devidamente preparadas, colocadas nos pesa filtros e prontas a seguirem para estufa.

2.2.4.2. Pesagem para os tubos de digestão

Após a secagem das amostras, estas foram retiradas da estufa, como a figura 15 ilustra. De seguida pesaram-se as amostras para posterior cálculo do peso das amostras secas e respetivo teor em humidade.

Após estes passos pesou-se rigorosamente uma toma de cada amostra para os tubos de digestão. Esta pesagem não deve ultrapassar os 0,5 gramas por cada amostra, sendo que estes valores foram necessários para a realização dos cálculos dos teores em metais pesados nas amostras.

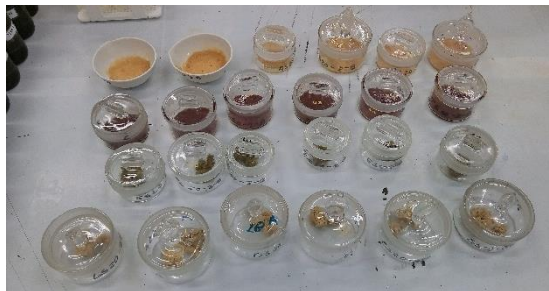


Figura 15- Amostras tapadas em pesa filtros, após terem sido retiradas da estufa, para evitar o aumento do teor de humidade.

2.2.4.3. Digestão e leitura do teor em metais pesados no ICP-AES

Após as etapas referidas em 2.2.4.2 e antes de se iniciar a digestão das amostras colocaram-se 2,5 mL de ácido clorídrico (HCl) e 7,5 mL de ácido nítrico (HNO₃), recorrendo a um doseador. As amostras com a solução ácida para digestão são colocadas na placa de aquecimento do digestor da figura 16. Ambas as etapas são sempre efetuadas numa hotte.

A digestão necessita de cerca de 120 a 140 minutos até estar concluída. Depois, passou-se o conteúdo da digestão para balões volumétricos de 25 mL, preenchendo-se o volume restante com água desionizada.

Segue-se a filtração para frascos de vidro escuro de 30 mL e posterior passagem de uma pequena parte para os tubos de leitura em ICP, com uma capacidade aproximada de 10 mL.

Por último, efetuaram-se as leituras dos metais pesados acima referidos, recorrendo ao equipamento de ICP-AES referido em 2.2.

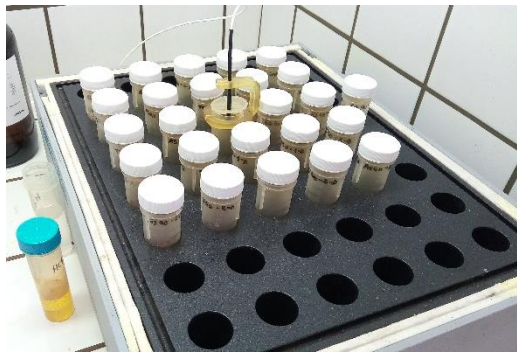


Figura 16- Placa de aquecimento do digestor, onde se pode também observar os tubos de digestão com as amostras.

2.2.5. Amostras líquidas

2.2.5.1. Descongelamento, Centrifugação e Medição de pH

As amostras da fase líquida foram colocadas em tubos de teflon e colocadas num congelador, de modo a que permanecessem conservadas até serem utilizadas para as determinações analíticas.

Para se obter uma melhor separação entre a parte líquida e o que restava da parte sólida e que ainda restava nos tubos de teflon onde as amostras foram armazenadas, efetuou-se uma centrifugação a 4000 rotações por minuto, durante 15 minutos e após este passo procedeu-se à medição do pH das amostras. As figuras 17 e 18 ilustram os equipamentos utilizados neste passo.



Figura 17- Medidor de pH utilizado no presente trabalho prático.



Figura 18- Centrifugadora utilizada para a separação da parte líquida das amostras.

2.2.5.2. Pesagem para os tubos de digestão

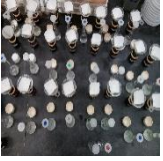
Após os passos referidos anteriormente, pesaram-se cerca de 5 gramas do líquido centrifugado para tubos de digestão. O restante processo, segue a mesma linha do referido para as amostras sólidas

2.2.5.3. Digestão das amostras e leitura no ICP-AES

Finalmente, efetuou-se a digestão das amostras e a leitura do teor de metais no ICP-AES, com o mesmo procedimento que foi utilizado para as amostras sólidas.

2.3. Análise estatística dos resultados

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada com recurso ao software SPSS 23.0, onde se realizaram comparações entre os valores obtidos (doze no total, ou seja, seis de cada condição de temperatura) através de um teste t de Student, com um nível de significância de 0,05. Assume-se, então, que sempre que o valor obtido no teste for inferior ao nível de significância, existem diferenças significativas entre os valores em estudo.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

“Sinto-me como se tivesse sido apenas um rapaz a brincar à beira-mar e a divertir-me a apanhar um seixo aqui e uma concha mais bonita ali, enquanto o grande oceano da verdade permanece por descobrir diante de mim.”

ISAAC NEWTON

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização de todo o procedimento analítico referido no ponto 2 do presente trabalho, procedeu-se ao tratamento dos dados obtidos no ICP-AES e posterior comparação com diversos dados bibliográficos, de modo a que se pudessem interpretar melhor as informações que se obtiveram e retirar algumas ilações.

Para as amostras sólidas foi necessário efetuar alguns cálculos adicionais, relativamente às amostras líquidas, visto que estes foram efetuados inicialmente tendo em conta o peso seco das amostras. Através do cálculo do teor de humidade das diversas amostras foi possível calcular o peso fresco das amostras e consequentemente o teor nos elementos em estudo na amostra tal como é apresentada o consumidor. A tabela 5 sintetiza os valores médios da humidade e pH das diversas amostras.

As informações obtidas foram divididas em dois pontos (3.1 e 3.2), relativos aos metais pesados em estudo e também em relação a outros elementos. Os valores do Limite de Quantificação, quando apresentados, têm como base o peso seco das amostras, visto que para as determinações analíticas efetuadas utilizaram-se amostras após a sua secagem.

Tabela 5- Valores médios de pH das amostras líquidas e de Humidade das amostras sólidas. Os valores representados são a média \pm o desvio padrão.

| Amostras | Condições experimentais | Tipo de amostra | pH | Humidade (%) |
|-----------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Ervilhas | Temperatura ambiente | Sólida | - | 79,75 \pm 0,15 |
| | | Líquida | 6,16 \pm 0,03 | - |
| | 40°C | Sólida | - | 79,05 \pm 0,42 |
| | | Líquida | 5,77 \pm 0,07 | - |
| Tomate Pelado Inteiro | Temperatura ambiente | Sólida | - | 94,01 \pm 0,23 |
| | | Líquida | 4,33 \pm 0,04 | - |
| | 40°C | Sólida | - | 94,08 \pm 0,29 |
| | | Líquida | 4,31 \pm 0,13 | - |
| Grão-de-bico | Temperatura ambiente | Sólida | - | 71,66 \pm 0,62 |
| | | Líquida | 6,11 \pm 0,04 | - |
| | 40°C | Sólida | - | 71,20 \pm 0,25 |
| | | Líquida | 5,84 \pm 0,09 | - |
| Ananás em calda | Temperatura ambiente | Sólida | - | 84,17 \pm 0,46 |
| | | Líquida | 3,91 \pm 0,14 | - |
| | 40°C | Sólida | - | 82,61 \pm 1,01 |
| | | Líquida | 3,99 \pm 0,03 | - |

3.1. Metais Pesados em Estudo

3.1.1. Cádmio

Na figura 19, estão representadas as concentrações médias de cádmio medidas nas amostras sólidas, à temperatura ambiente e a 40 °C.

As amostras líquidas apresentaram valores de Cd inferiores ao Limite de Quantificação para a detecção deste metal, que neste caso era 0,002 mg/kg.

De acordo com o Regulamento CE nº 1881/2006 (Secção 3.2 do anexo), consideram-se como teores máximos de cádmio para o grão-de-bico 0,10 mg/kg e para as restantes amostras 0,05 mg/kg.

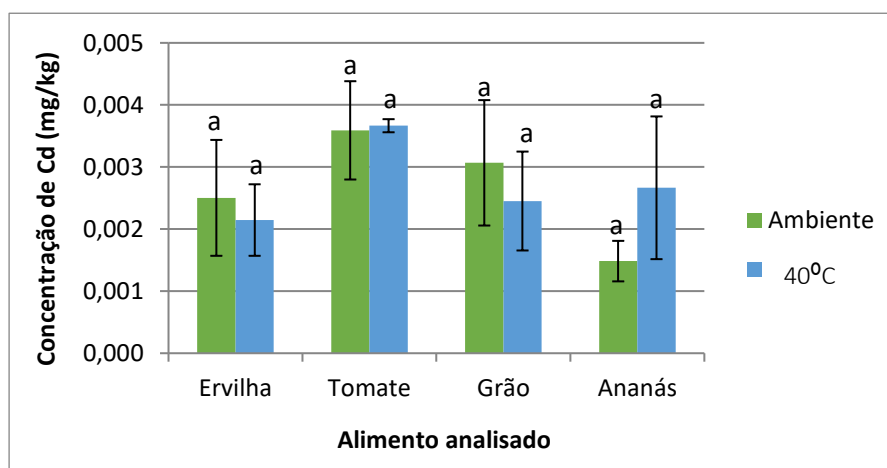


Figura 19- Concentrações de cádmio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Ervilhas

Em conformidade com o que está descrito no Regulamento CE nº 1881/2006 (Secção 3.2 do anexo) e no ponto 3.1.1 deste trabalho, o teor de cádmio nas ervilhas não deve exceder os 0,05 mg/kg. Observa-se, então, a partir dos dados obtidos que as amostras analisadas não excedem este valor para ambas as condições de temperatura.

A análise estatística demonstrou que não existem diferenças entre as amostras à temperatura ambiente e as que estiveram em estufa.

Tomate Pelado Inteiro

Igualmente às amostras de ervilhas, considera-se que o teor máximo de cádmio detetado no tomate não deve exceder os 0,05 mg/kg. Estas amostras apresentam um teor médio de cádmio de 0,004 mg/kg para as amostras que estiveram à temperatura ambiente e 0,004 mg/kg para as amostras que estiveram em estufa a 40°C.

Após a realização da análise estatística conclui-se que os valores não são significativamente diferentes e por isso é possível afirmar que não houve migração de cádmio nestas amostras com o aumento da temperatura e que os níveis de Cd encontrados se encontram bastante abaixo do máximo permitido pela legislação.

Grão-de-bico

Como referido no início deste ponto, considera-se que o teor máximo de cádmio no grão-de-bico não deve exceder os 0,10 mg/kg. Após a observação do gráfico da figura 20, constata-se que estes estão muito abaixo deste valor para ambas as condições de temperatura a que as amostras estiveram expostas.

A análise estatística demonstrou não existirem diferenças significativas entre os resultados, logo é possível afirmar que, à semelhança das amostras anteriores, não houve migração de cádmio com o aumento da temperatura.

Ananás em calda

Por último, e para concluir o estudo de migração do cádmio, procedeu-se ao tratamento de dados deste metal pesado para o último grupo de amostras, o ananás em calda enlatado, onde se observou o valor de pH mais baixo.

Mais uma vez, o teor máximo deste metal pesado nestas amostras, segundo a legislação que tem sido enunciada nos pontos anteriores, é 0,05 mg/kg e em ambos os casos os valores obtidos estão bastante abaixo do valor legislado e o desvio padrão é apenas um pouco mais elevado nas amostras que estiveram em estufa, mas os valores não significativamente diferentes, portanto não ocorreu migração deste metal pesado, com o aumento da temperatura.

Conclusões Intercalares

- Nenhuma das amostras demonstrou valores de cádmio significativamente diferentes e por isso conclui-se que não ocorreu migração de cádmio em nenhuma das amostras analisadas, com o aumento da temperatura.
- Todas as amostras cumprem com estipulado na legislação em vigor, com teores de Cd bastante abaixo dos limites legais.
- As amostras de ananás foram as que apresentaram menor pH

3.1.2. Chumbo

Após a determinação do teor de chumbo nas amostras sólidas e líquidas, obtiveram-se resultados inferiores ao Limite de Quantificação (0,20 mg/kg para as amostras sólidas e 0,05 mg/kg para as amostras líquidas), pelo que não foram representados os gráficos e os valores não foram considerados para o seu tratamento.

3.1.3. Cobre

Nas figuras 20 e 21, estão representadas as concentrações médias de cobre medidas nas amostras sólidas e líquidas, à temperatura ambiente e a 40°C. A concentração de cobre indicada corresponde à média dos resultados obtidos em cada amostra (correspondente a cada embalagem metálica).

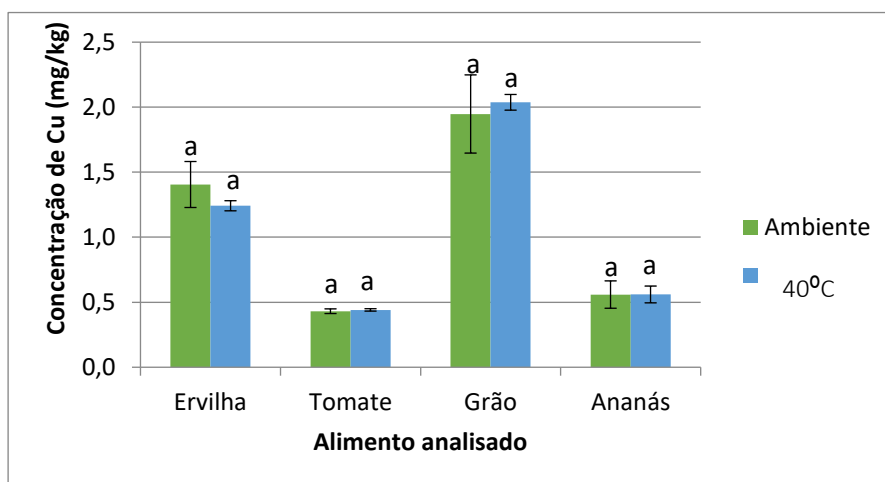


Figura 20- Concentrações de cobre detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

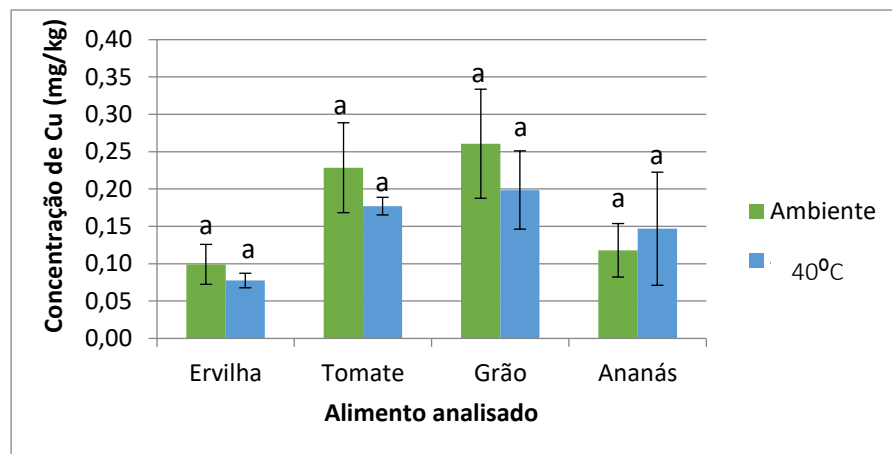


Figura 21- Concentrações de cobre detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

O Regulamento CE nº 1881/2006, não fornece qualquer indicação quanto ao teor máximo admissível de cobre em produtos alimentares. Para este metal recorreu-se ao manual *Dietary reference intakes* para que fosse possível uma comparação com as doses diárias necessárias e máximas de cobre na alimentação de indivíduos de diferentes faixas etárias e em fases da vida distintas.

Ervilhas

A análise estatística dos resultados demonstrou que os valores descritos das amostras sólidas e líquidas não são significativamente diferentes e, portanto, não existiu migração de cobre com o aumento da temperatura

Segundo Padovani R. et al. um indivíduo adulto não deve consumir mais do que 10 mg de cobre num dia, para evitar efeitos adversos no seu organismo. Em grávidas este valor desce para 8 mg e em crianças para 5 mg. Por outro lado, o consumo diário ideal deste mineral deverá ser de 0,7 mg para adultos, 0,8 mg em grávidas e 0,5 mg em crianças.

Tendo em conta que uma embalagem de ervilhas contém 260 gramas de “alimento sólido”, considera-se então que existiam 0,504 mg de cobre nas embalagens à temperatura ambiente e 0,432 mg nas que estiveram em estufa. Assim, se consumo deste alimento por qualquer pessoa de qualquer faixa etária ou fase de vida fosse de

uma embalagem por dia, não excederia o valor máximo diário e forneceria até um teor aceitável deste metal pesado.

Tomate Pelado Inteiro

Realizou-se a análise estatística e comprovou-se que os valores não são significativamente diferentes (para ambas as amostras), logo, não é possível afirmar que houve migração de cobre nas amostras de tomate.

Seguindo as informações fornecidas por Padovani R. et al. e tendo em conta que uma lata deste alimento possui 240 gramas do alimento que será efetivamente ingerido, considera-se que existiam 0,096 mg de cobre nas embalagens. Esta quantidade de cobre não excede o máximo admissível, sendo até um valor adequado de consumo.

Grão-de-bico

Novamente, a análise estatística demonstrou a inexistência de migração de cobre com o aumento da temperatura. A ingestão da quantidade de grão das embalagens analisadas não excede o valor máximo diário.

Ananás em calda

Para as amostras sólidas de ananás em calda, obtiveram-se valores iguais nas amostras sólidas (0,6 mg/kg) e um ligeiro aumento com a temperatura (0,12 mg/kg para 0,15 mg/kg), nas amostras líquidas.

À semelhança com os pontos anteriores, a análise estatística demonstrou que não ocorreu uma migração de cobre com o aumento da temperatura e que o consumo deste alimento forneceria um teor admissível de cobre para o consumidor.

Conclusões Intercalares

- Em todas as amostras analisadas, não se provou a ocorrência de migração de cobre com o aumento da temperatura.
- Os alimentos analisados, forneceriam até um teor de cobre adequado para o consumidor, caso o consumo diário fosse de uma embalagem

3.1.4. Crômio

Na figura 22, estão representadas as concentrações médias de crômio à temperatura ambiente e a 40°C, exceto as amostras de ervilha, em que também se obteve um valor inferior ao Limite de Quantificação para os sólidos (LQ – 0,05 mg/kg). Não foi representado o gráfico relativo às amostras líquidas, visto que todas as amostras apresentaram valores inferiores ao Limite de Quantificação do método para a detecção deste metal em amostras líquidas, que neste caso era 0,05 mg/kg.

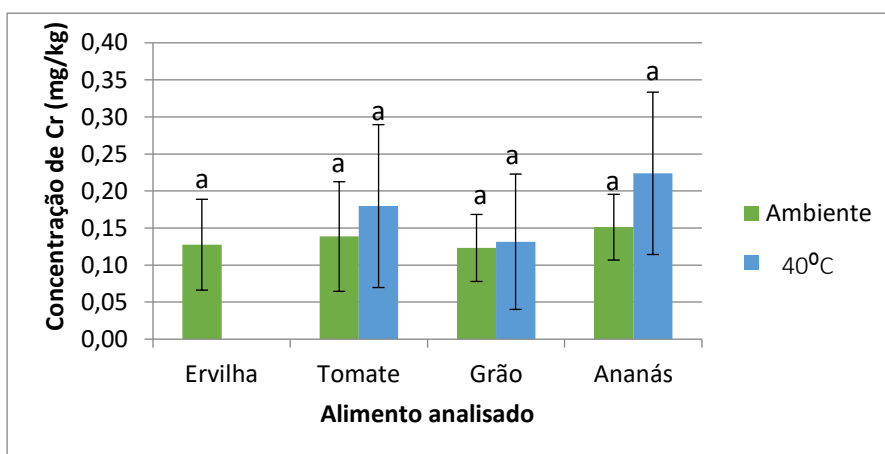


Figura 22- Concentrações de crômio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Para este metal pesado, o manual *Dietary reference intakes* faz apenas uma referência para o valor adequado de consumo (AL), não sendo possível determinar os valores de UL e EAR.

Ervilhas

Tendo em conta que a média de valores para o teor de crômio nas embalagens que estiveram em estufa era inferior a LQ, não foi possível realizar a análise estatística dos resultados, não sendo possível afirmar que os teores de crômio são significativamente diferentes entre amostras.

Segundo Padovani R. et al., para um grupo de indivíduos nas condições referidas em 4.1.3., o valor diário adequado de consumo de crômio deverá ser entre 0,021 mg a 0,035mg. Numa embalagem com 260 gramas de alimento sólido, existem 0,034 mg de crômio, estando este valor no limiar do consumo desejado deste metal pesado, tendo em conta um consumo diário de uma lata de ervilhas.

Tomate Pelado Inteiro

A análise estatística comprovou que estes resultados não são significativamente diferentes, não existindo migração de crómio com o aumento da temperatura. É de notar também que relativamente ao consumo deste alimento, o consumo de crómio está próximo do teor máximo desejado, à semelhança com as amostras de ervilhas e tendo em conta as mesmas condições de consumo.

Grão-de-bico

A realização da análise estatística demonstrou que não houve migração de crómio com o aumento da temperatura. À semelhança com os pontos anteriores, o consumo deste alimento leva ao consumo de um teor de crómio admissível.

Ananás em calda

Foi demonstrado, mais uma vez, que não ocorreu migração de crómio com o aumento da temperatura. Contudo, o consumo deste alimento contribuiria com uma quantidade de crómio superior ao desejado.

Conclusões Intercalares

- Não ocorreu migração de crómio em nenhuma das amostras analisadas.
- Considerando um consumo de uma lata de alimento por dia, não seriam consumidas quantidades de crómio preocupantes, ainda que ligeiramente superiores ao desejável nos quatro alimentos analisados.

3.1.5. Estanho

A figura 23 esquematiza o teor em estanho que foi detetado nas amostras sólidas de tomate e ananás. O teor em estanho detetado nas ervilhas e no grão, em ambas as temperaturas estudadas, foi inferior a LQ (LQ – 0,50 mg/kg).

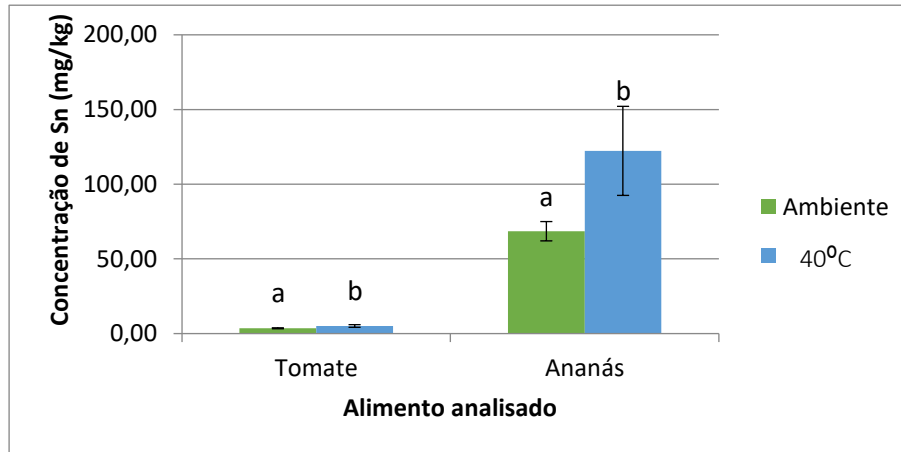


Figura 23- Concentrações de estanho detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

Para as amostras líquidas (figura 24), ocorreu uma situação semelhante às amostras sólidas, com a exceção de que o valor obtido de amostra de ervilhas acima de LQ (LQ – 0,10 mg/kg) foram as que estiveram em estufa.

Segundo o Regulamento CE nº 1881/2006 (Secção 3.4 do anexo), o valor máximo de estanho nos quatro alimentos em estudo é 200 mg/kg.

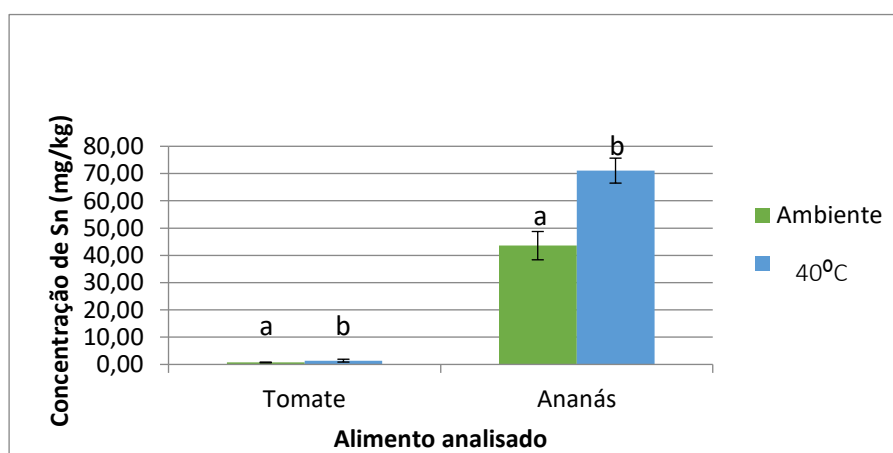


Figura 24- Concentrações de estanho detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

Ervilhas

Tendo em conta que no caso das amostras sólidas, a média do teor de estanho detetado nestas amostras, a ambas as condições de temperatura estava abaixo de LQ e que nas amostras líquidas um dos valores teve o mesmo comportamento, não foi possível realizar a análise estatística, portanto é possível afirmar a inexistência de migração de estanho com o aumento da temperatura, sendo que o teor em estanho está dentro dos parâmetros previstos pela legislação.

Tomate Pelado Inteiro

A análise estatística confirma que os valores apresentados são significativamente diferentes, para os dois tipos de amostras (em sólidos e líquidos confirma-se o aumento significativo do teor de estanho com o aumento da temperatura), sendo possível afirmar que ocorreu migração de estanho nas embalagens de tomate que estiveram em estufa.

Apresentam-se então dois motivos para a ocorrência de migração de estanho neste alimento. Em primeiro lugar, as amostras de tomate pelado inteiro são uma das que têm um pH mais baixo, o que pode potenciar uma descontinuidade nas camadas que constituem a folha-de-flandres (Kassoufa, 2013). Por outro lado, tal como indicado em 1.2.1.1, a camada de estanho é uma das camadas que está em maior contacto com o alimento, sendo que caso exista óxido de estanho no sistema, este pode inviabilizar a proteção conferida pelos filmes orgânicos contra a migração de metais pesados para os alimentos (Kunst et al., 2016).

Em ambas as condições de temperatura, as amostras possuem teores de estanho dentro do exigido pela legislação referida.

Grão-de-bico

Para as amostras de grão-de-bico, todos os resultados obtidos apresentavam valores abaixo do Limite de Quantificação.

Ananás em calda

Mais uma vez, a análise estatística demonstrou que estes valores são significativamente diferentes, e por isso, assume-se que ocorreu migração de estanho nas embalagens de ananás em calda, com o aumento da temperatura. Tendo em conta que as amostras de ananás são as mais ácidas, os motivos para esta migração aparentam ser os mesmos que foram apresentados para as amostras de tomate.

Em ambas as condições de temperatura, as amostras possuem teores de estanho dentro do exigido pela legislação em vigor.

Conclusões Intercalares

- As amostras com pH mais baixo foram as que apresentaram migração de estanho da embalagem para o alimento com o aumento da temperatura, reforçando o que tem vindo a ser defendido por autores como Kassoufa, et al.
- A possibilidade de as camadas de filmes orgânicos não terem sido suficientes para evitar a ocorrência de migração parece plausível, visto que até agora só se verificou a migração de estanho (ainda que seja apenas uma possibilidade, não sendo possível ter a certeza).
- Em todas as amostras analisadas, foram cumpridos os teores máximos de estanho, permitidos pelo Regulamento CE nº 1881/2006 (Secção 3.4 do anexo).

3.1.6. Ferro

Nas figuras 25 e 26, estão representadas as concentrações médias de ferro detetado no ICP-AES, durante a leitura das amostras sólidas e líquidas, à temperatura ambiente e a 40°C.

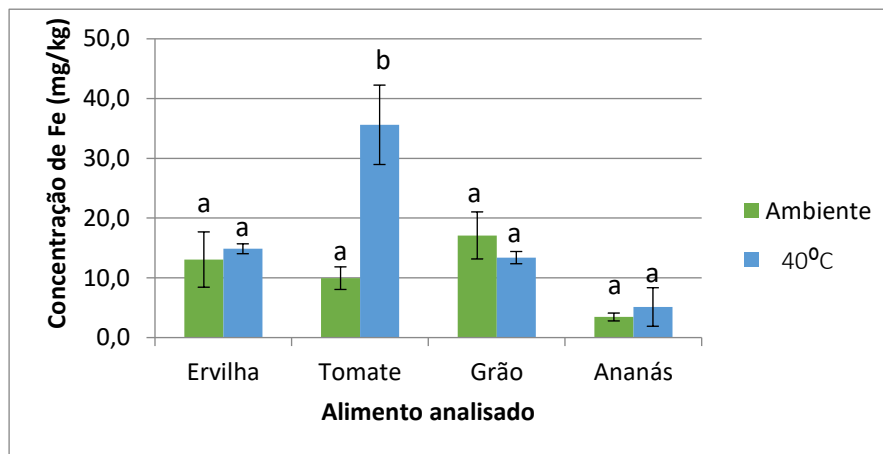


Figura 25- Concentrações de ferro detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

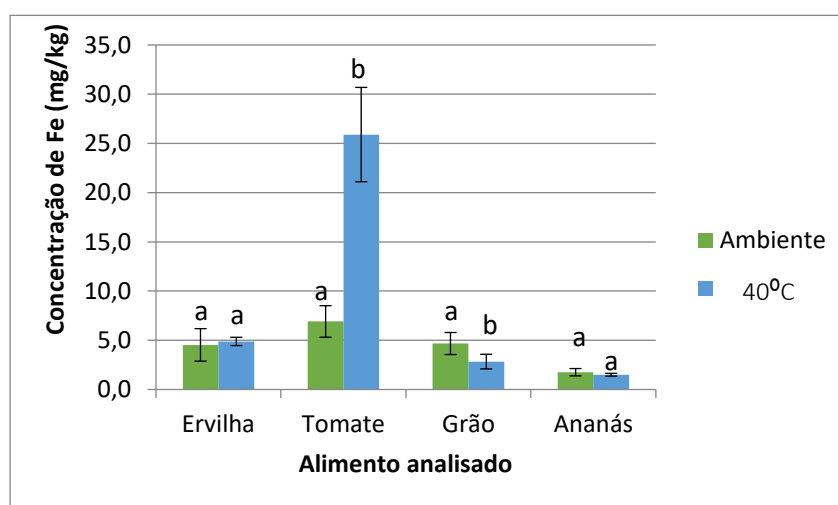


Figura 26- Concentrações de ferro detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Segundo Padovani R. et al. um indivíduo adulto não deve consumir mais do que 45 mg de ferro num dia, para evitar efeitos adversos no seu organismo. Em crianças este valor decresce para 40 mg. De qualquer modo, o consumo diário ideal deste metal pesado deverá ser de 8 mg para adultos e 6 mg em crianças.

Ervilhas

A análise estatística não deixa quaisquer dúvidas quanto à inexistência de uma diferença significativa entre os valores apresentados e consequentemente, a inexistência de migração de ferro nas embalagens de ervilhas com o aumento da temperatura.

Assim, numa lata com 260 gramas de alimento existem cerca de 3,5 mg de ferro, constituindo até um consumo diário desejável deste mineral pelo consumidor. O INSA refere que deverão existir cerca de 1,1 mg de ferro por 100 gramas de ervilhas, o que se confirma.

Tomate Pelado Inteiro

A análise estatística evidencia claramente uma migração de ferro nas embalagens que estiveram expostas a uma temperatura superior. Devido ao baixo pH destas amostras, a migração poderá ter sido acelerada, fazendo com que as amostras de tomate possuam dois fatores que potenciam a migração dos metais pesados (temperatura e pH), tal como foi verificado na análise ao estanho.

Numa embalagem à temperatura ambiente existem 2,4 mg de ferro (8,5 mg nas latas que estiveram em estufa), não constituindo por isso um risco para a saúde. O INSA refere que deverão existir cerca de 0,6 mg de ferro por 100 gramas de tomate, sendo que estas embalagens possuem um teor ligeiramente superior.

Grão-de-bico

A análise estatística comprovou que os valores para as amostras sólidas não são significativamente diferentes, mas nas amostras líquidas obteve-se um resultado contrário. Neste caso, as amostras sólidas não apresentam migração de ferro com o aumento da temperatura, mas as amostras líquidas apresentam. Isto sugere que a migração de ferro da embalagem para o seu conteúdo estava ainda numa fase muito inicial, tendo o teor de ferro aumentado significativamente apenas nas amostras líquidas e, talvez, só mais tarde é que este efeito se manifestaria nas amostras sólidas.

Para uma embalagem de 260 gramas existem cerca de 4 mg de ferro, o que é ainda um teor em ferro aceitável tendo em conta o seu consumo diário. O INSA refere que deverão existir cerca de 2,1 mg de ferro por 100 gramas de grão, o que se confirma.

Ananás em calda

A análise estatística demonstrou que os resultados não são significativamente diferentes, não sendo comprovada a migração de ferro nestas embalagens com o aumento da temperatura.

Tendo em conta que as amostras de tomate apresentaram uma migração de estanho e de ferro, seria também de esperar que as de ananás também apresentassem, devido às semelhanças das condições de pH destes alimentos, apresentando-se como uma causa possível a pouca representatividade das amostras (demasiado afastadas de um possível “foco de migração” de ferro).

Uma embalagem de ananás em calda semelhante à analisada possuía 490 gramas de alimento, o que corresponde a 1,7 mg de ferro, o que não constitui um risco para a saúde do consumir, sendo que até está no intervalo do consumo ideal deste elemento. O INSA refere que deverão existir cerca de 0,3 mg de ferro por 100 gramas de ananás, o que se confirma.

Conclusões Intercalares

- As amostras de tomate apresentaram uma migração de ferro com o aumento da temperatura
- As amostras de grão aparentavam estar ainda numa fase muito inicial de migração de ferro
- Em todas as situações não foram verificados teores de ferro que constituíssem um risco para a saúde, sendo que em alguns casos o seu consumo diário, nas condições descritas anteriormente, está dentro do intervalo de consumo recomendado e estão de acordo com o previsto pelo INSA.

3.1.7. Manganês

Nas figuras 27 e 28, estão representadas as concentrações médias de manganês detetado no ICP-AES, durante a leitura das amostras sólidas e líquidas, à temperatura ambiente e a 40°C.

Apesar do manual *Dietary reference intakes*, não fazer referência à dose diária de manganês ideal, é possível saber qual a dose máxima admissível (UL). Para adultos considera-se o valor de 11 mg, para grávidas 9 mg e para crianças 6 mg.

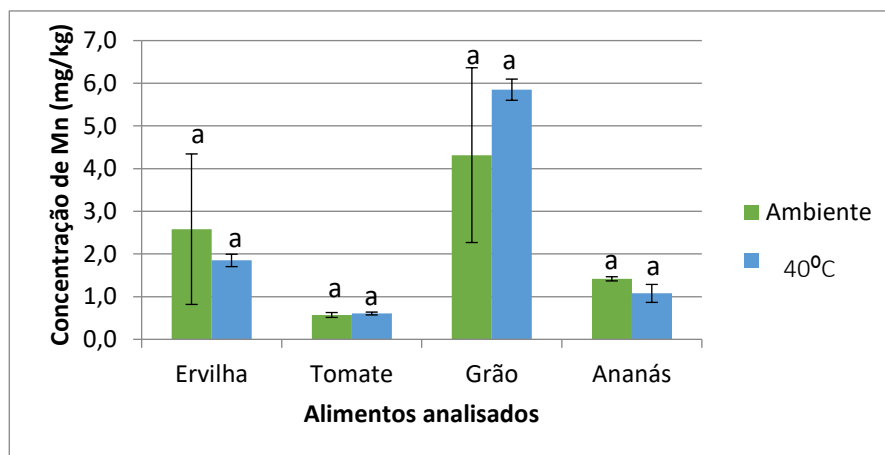


Figura 27- Concentrações de manganês detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

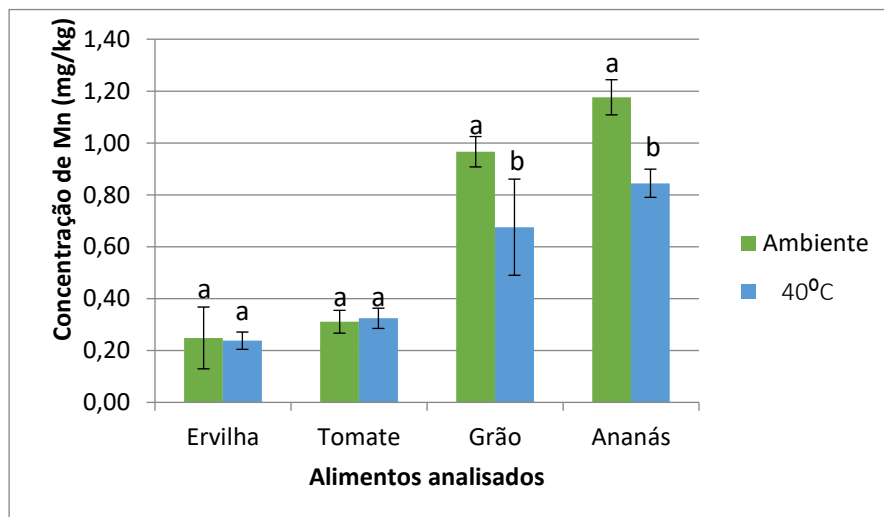


Figura 28- Concentrações de manganês detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Ervilhas

A análise estatística demonstrou que os valores apresentados não são significativamente diferentes. Tendo em conta os valores referidos para UL, estas amostras não constituem um risco à saúde do consumidor.

Tomate Pelado Inteiro

A análise estatística confirmou que estes valores não são significativamente diferentes. Tendo em conta os valores referidos para UL, estas amostras não constituem um risco à saúde do consumidor.

Grão-de-bico

Neste caso, a análise estatística demonstrou que os valores das amostras sólidas não são significativamente diferentes, mas os das amostras líquidas são. Tendo em conta que existe uma diminuição do teor de manganês com o aumento de temperatura, a possibilidade mais forte parece ser a existência de uma contaminação anterior a este estudo, o que se pode traduzir numa migração de manganês das embalagens que estiveram à temperatura ambiente para os alimentos, resultado de uma descontinuidade na folha-de-flandres, causada por um possível defeito de fabrico.

Tendo em conta os valores referidos para UL, estas amostras não constituem um risco à saúde do consumidor.

Ananás em calda

À semelhança com as amostras de grão-de-bico, os valores das amostras sólidas não são significativamente diferentes, mas os das amostras líquidas são. Neste caso, os motivos para esta ocorrência aparentam ser os mesmos que os do ponto anterior, ou seja, um possível defeito de fabrico pode ter levado a uma migração de manganês, ainda que numa fase inicial.

Tendo em conta os valores referidos para UL, estas amostras não constituem um risco à saúde do consumidor.

Conclusões Intercalares

- As amostras de ananás e de grão têm um comportamento semelhante, ou seja, um possível defeito de fabrico pode ter levado a uma migração de manganês, ainda que numa fase muito inicial.
- Para o consumo referido, estes alimentos não constituem um risco para a saúde do consumidor.

3.1.8. Níquel

Tendo em conta que os desvios padrões obtidos foram na sua maioria superiores aos valores médios obtidos, não foi possível quantificar com rigor o teor em níquel, embora esses valores sejam relativamente baixos, não apresentando perigo para o consumidor.

3.1.9. Zinco

Finalmente, e para terminar este ponto dedicado à análise dos principais metais pesados analisados na presente dissertação, ilustraram-se nas figuras 29 e 30, as concentrações médias de zinco nas amostras sólidas e líquidas, à temperatura ambiente e a 40°C.

Segundo Padovani R. et al. um indivíduo adulto não deve consumir mais do que 40 mg de zinco num dia, para evitar efeitos adversos no seu organismo. Em crianças este valor decresce para 23 mg. De qualquer modo, o consumo diário ideal deste metal pesado deverá ser de 7 mg, para todas as faixas etárias em estudo.

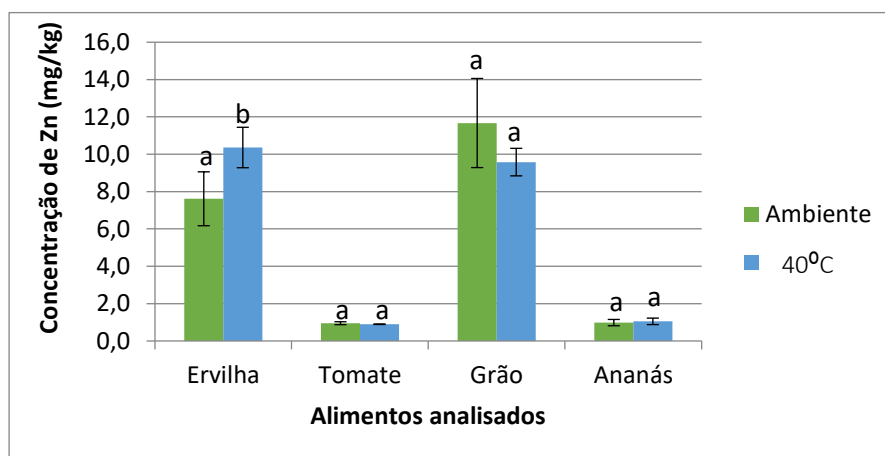


Figura 29- Concentrações de zinco detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão obtido. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

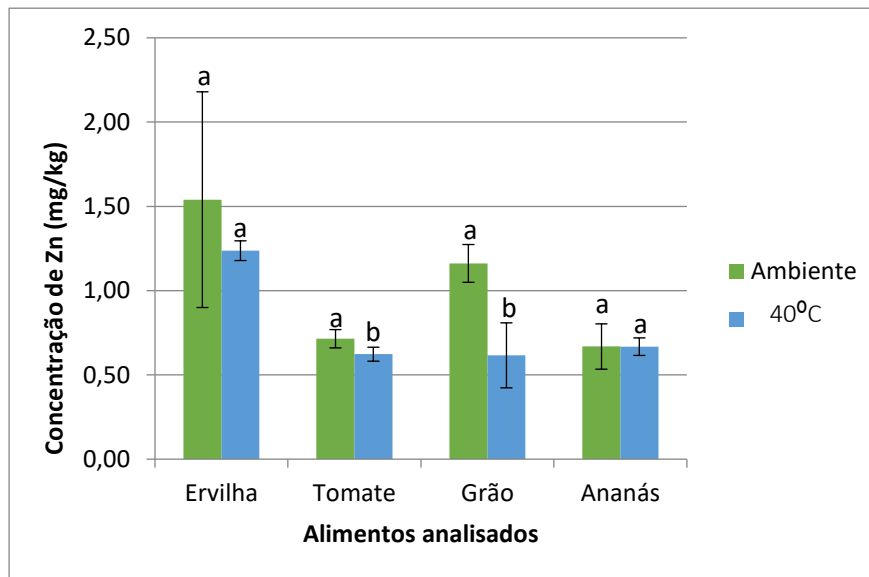


Figura 30- Concentrações de zinco detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Ervilhas

Devido à heterogeneidade das amostras analisadas, o desvio padrão é muito superior à média e, portanto, os valores obtidos para as amostras sólidas e líquidas de ervilhas não foram tidos em conta neste estudo.

Tomate Pelado Inteiro

A análise estatística demonstrou que as amostras sólidas não têm valores significativamente diferentes, apesar das líquidas terem. Isto leva a crer que existia um defeito de fabrico das embalagens utilizadas como amostras à temperatura ambiente ou então uma contaminação anterior a este estudo, visto que existia comprovadamente um teor em zinco inferior nas amostras a 40°C do que a 20°C, contrariando o esperado.

Tendo como base os valores referidos para UL, as amostras não constituem um risco para a saúde do consumidor, estando até dentro dos limites recomendados de ingestão diária (EAR). O INSA refere que deverão existir cerca de 0,3 mg de zinco por 100 gramas de ervilhas, possuindo o alimento um teor abaixo do esperado.

Grão-de-bico

À semelhança com as amostras de tomate, a análise estatística revela que as amostras sólidas não têm valores significativamente diferentes, apesar das líquidas terem. Este facto parece ser justificado pelos mesmos motivos que foram apresentados no ponto anterior.

Tendo em conta os valores referidos para UL, estas amostras (20 °C) não constituem um risco à saúde do consumidor, estando até dentro do intervalo dos valores recomendados de ingestão diária (EAR). O INSA refere que deverão existir cerca de 1,2 mg de zinco por 100 gramas de ervilhas, possuindo o alimento um teor abaixo do esperado.

Ananás em calda

A análise estatística demonstrou não existirem diferenças significativas entre valores, não tendo ocorrido migração de zinco nas amostras de ananás. Tendo como base os valores referidos para UL, as amostras não constituem um risco para a saúde do consumidor, estando até dentro dos limites recomendados de ingestão diária (EAR). O INSA refere que deverão existir cerca de 0,1 mg de zinco por 100 gramas de ervilhas, possuindo o alimento um teor abaixo do esperado.

Conclusões Intercalares

- As amostras de ervilhas apresentaram migração nas amostras sólidas, mas não nas líquidas. Isto pode dever-se a erros experimentais ou então a uma contaminação anterior.
- Nas amostras de tomate e de grão, observou-se um teor em zinco superior nas amostras que estiveram à temperatura ambiente do que nas que estiveram em estufa. As causas mais prováveis são um possível defeito de fabrico das embalagens ou uma contaminação neste mineral, anterior a este estudo.
- Para o consumo diário de uma lata de alimento, não se considera existir um risco para a saúde do consumidor. Todos os alimentos possuem um teor em zinco abaixo do previsto pelo INSA.

3.2. Outros elementos analisados

Após o tratamento mais exaustivos dos dados relativos aos principais metais pesados estudados no decorrer deste trabalho prático, seguem-se outros que também foram analisados, apresentando-se de uma forma mais resumida, dividindo-se em elementos que podem causar efeitos benéficos e maléficos ao metabolismo dos seres humanos.

3.2.1. Elementos benéficos para o metabolismo humano (quando ingeridos nas quantidades recomendadas)

3.2.1.1. Cálcio

Segundo a publicação de *Aditivos e Ingredientes*, o cálcio é um mineral muito importante para a libertação de neurotransmissores no cérebro, uma ajuda vital para o sistema nervoso, reforça a constituição óssea do corpo e metaboliza o ferro, essencial para o bom funcionamento do coração. Outros autores como Padovani R. et al. referem que o consumo diário de cálcio não deve exceder os 2,5 gramas.

Nas figuras 31 e 32, apresenta-se a leitura de cálcio das amostras analisadas, em ICP-AES.

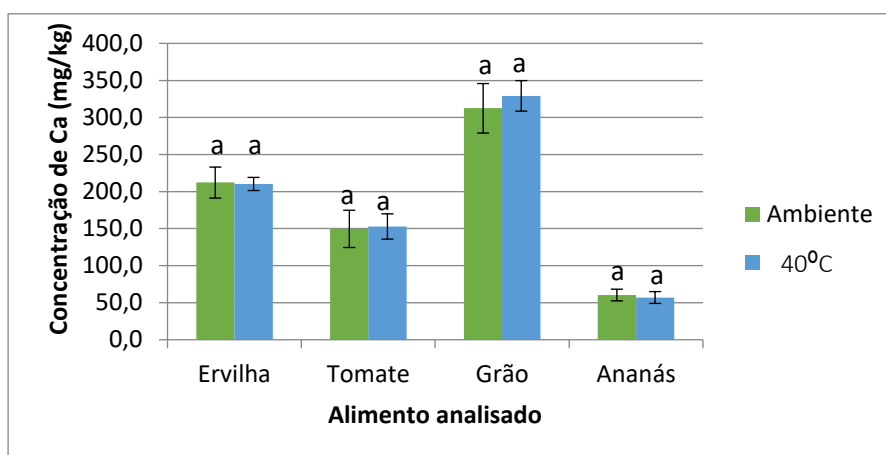


Figura 31- Concentrações de cálcio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

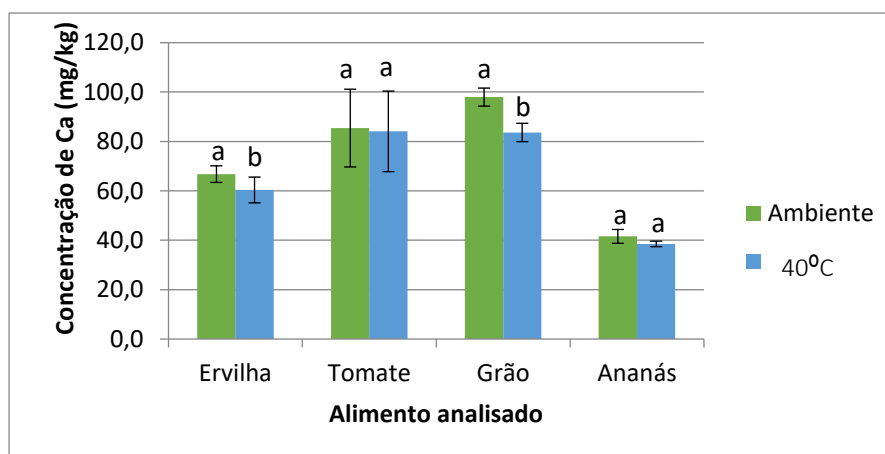


Figura 32- Concentrações de cálcio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

Tendo em conta os dados fornecidos pelo INSA, os teores em cálcio das amostras analisadas estão dentro do esperado, à exceção das amostras de ananás que possuem um teor em cálcio inferior em cerca de 50%. A análise estatística demonstrou que nas amostras sólidas os valores não são significativamente diferentes em nenhuma das amostras. Por outro lado, a mesma demonstrou que nas amostras líquidas apenas as amostras de tomate e ananás não possuem teores significativamente diferentes de cálcio.

O consumo destes alimentos está ainda no intervalo para um consumo diário seguro de cálcio para o consumidor.

3.2.1.2. Enxofre

O enxofre é um elemento essencial em todos os seres vivos, devido à sua presença nos aminoácidos, proteínas e outras biomoléculas essenciais à vida, sendo que alguns antioxidantes contêm enxofre (Atmaca, 2004)

Nas figuras 33 e 34, apresenta-se a leitura de enxofre das amostras analisadas, em ICP-AES.

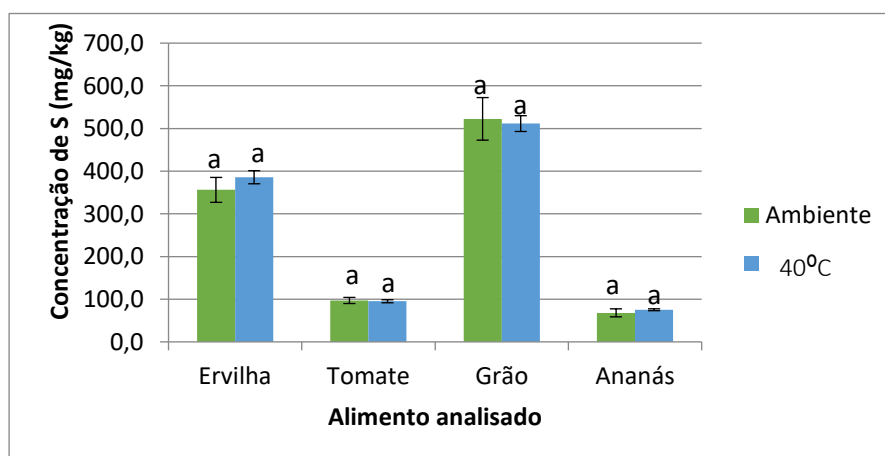


Figura 33- Concentrações de enxofre detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

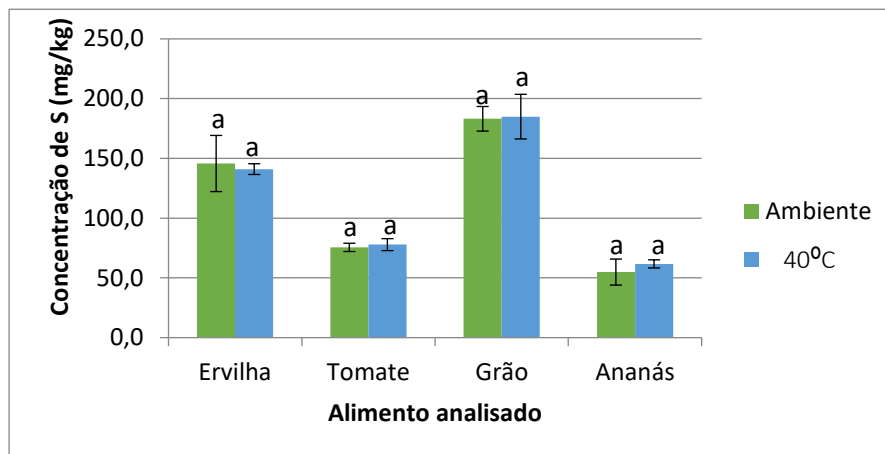


Figura 34- Concentrações de enxofre detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Infelizmente, as tabelas nutricionais do INSA não fazem referência aos teores de enxofre esperados e o manual Dietary Reference Intakes não sugere qual o valor máximo admissível para o consumo deste elemento, mas é possível observar pelos gráficos das figuras 33 e 34, que as amostras de grão são as que apresentam um teor em enxofre superior, o que seria de esperar, visto que as leguminosas são dos alimentos que contêm mais enxofre na sua constituição.

A análise estatística, como esperado, concluiu que nenhuma das amostras possui diferenças significativas do teor em enxofre, entre cada amostra.

3.2.1.3. Fósforo

O fósforo é um nutriente essencial na mineralização dos ossos, está envolvido no metabolismo celular, faz parte da estrutura dos fosfolípidos, nucleótidos e ácido nucleico. O fosfato intracelular está presente em diversos compostos fosforilados como por exemplo a adenosina trifosfato (ATP) e a guanosina trifosfato (GTP), sendo a primeira uma molécula de armazenamento de energia e a última uma molécula de transporte de energia (Kemi, 2010). O seu consumo diário deverá ser na ordem dos 500 a 1000 mg.

Nas figuras 35 e 36, apresenta-se a leitura de fósforo das amostras analisadas, em ICP-AES.

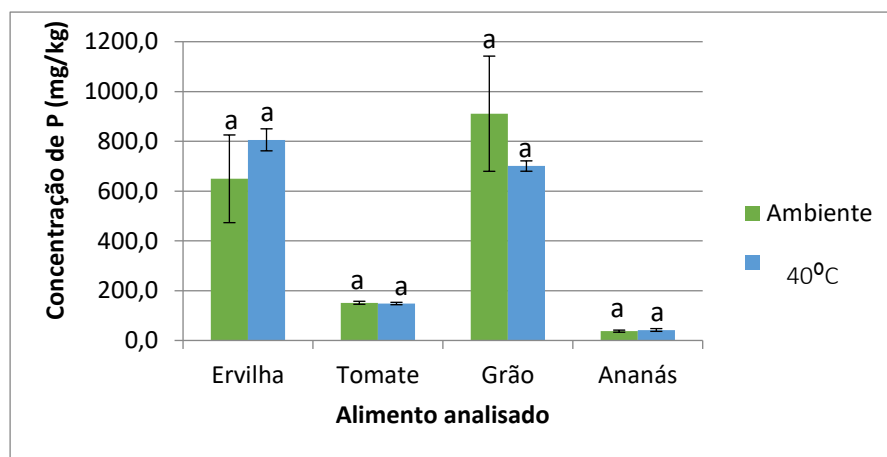


Figura 35- Concentrações de fósforo detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

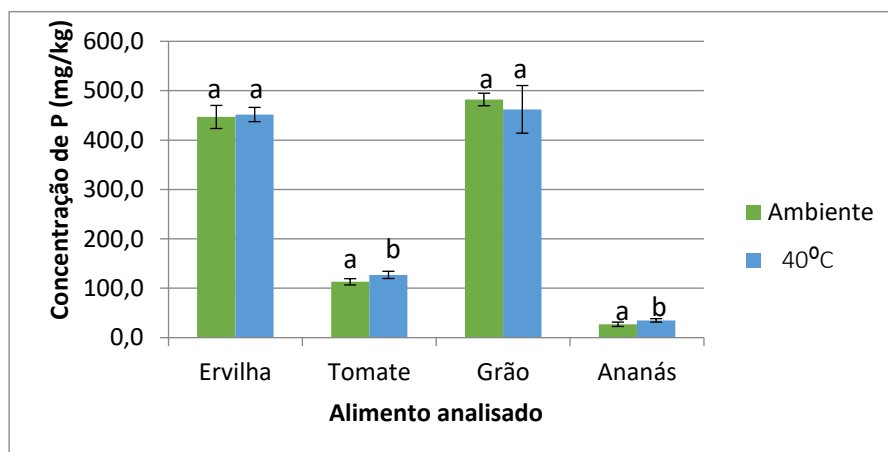


Figura 36- Concentrações de fósforo detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Novamente, segundo o INSA, os teores em fósforo das amostras analisadas estão dentro do esperado e a análise estatística demonstrou que nas amostras sólidas os valores não são significativamente diferentes em nenhuma das amostras. Nas amostras líquidas as amostras de tomate e ananás possuem teores significativamente diferentes de fósforo, com a temperatura.

Mais uma vez e à semelhança com 3.2.1.1, esta diferença parece dever-se a erros experimentais, isto porque, se a diferença residisse nas amostras, a análise estatística das amostras sólidas deveria apresentar um comportamento semelhante.

3.2.1.4. Magnésio

O magnésio é um elemento muito importante, sendo dos mais abundantes em células vivas e está envolvido em todas as vias metabólicas. A absorção de magnésio tende a diminuir com idade, sendo por isso esperado que pessoas com mais idade tendam a sofrer de uma maior deficiência em magnésio. Contudo, algumas doenças gastrointestinais também afetar a sua absorção. Uma deficiência em magnésio pode levar ao aumento do stress oxidativo das células (Bhutto et al, 2005)

Nas figuras 37 e 38, apresenta-se a leitura de magnésio das amostras analisadas, em ICP-AES.

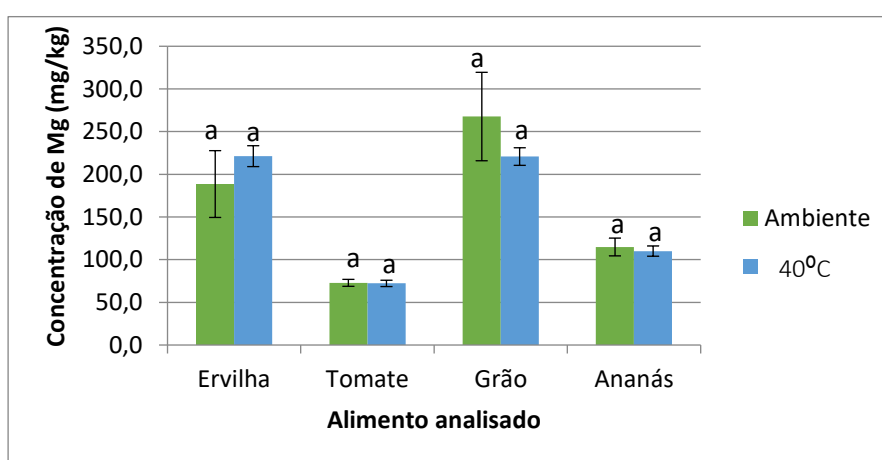


Figura 37- Concentrações de magnésio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

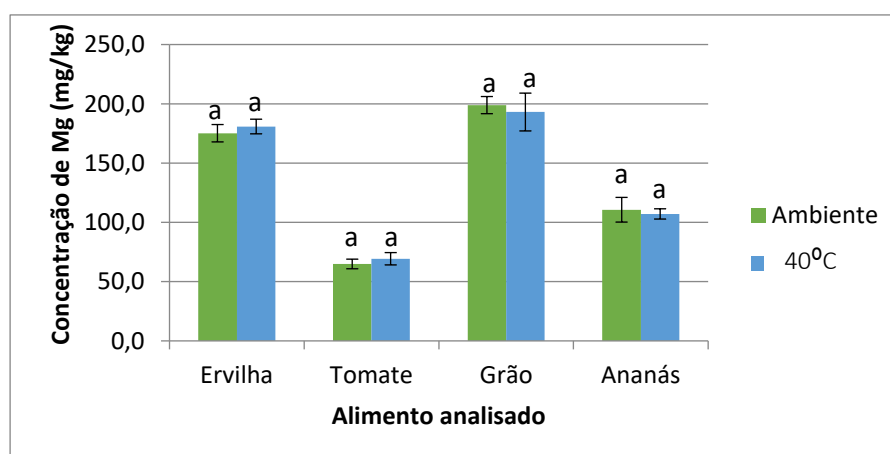


Figura 38- Concentrações de magnésio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

À semelhança com os pontos anteriores e segundo as informações disponibilizadas pelo INSA, o teor em magnésio está dentro do esperado para quase todas as amostras, sendo que apenas as amostras de tomate apresentam um teor ligeiramente inferior (cerca de 30% inferior). Como esperado, a análise estatística comprovou a inexistência de diferenças significativas do teor de magnésio nas amostras, com o aumento da temperatura.

3.2.1.5. Potássio

O potássio é um elemento essencial na fase de crescimento de um ser humano, possui uma função importante na regulação da água no organismo, na síntese de proteínas e na regulação da função celular (Stone et al, 2016).

Nas figuras 39 e 40, apresenta-se a leitura de potássio das amostras analisadas, em ICP-AES.

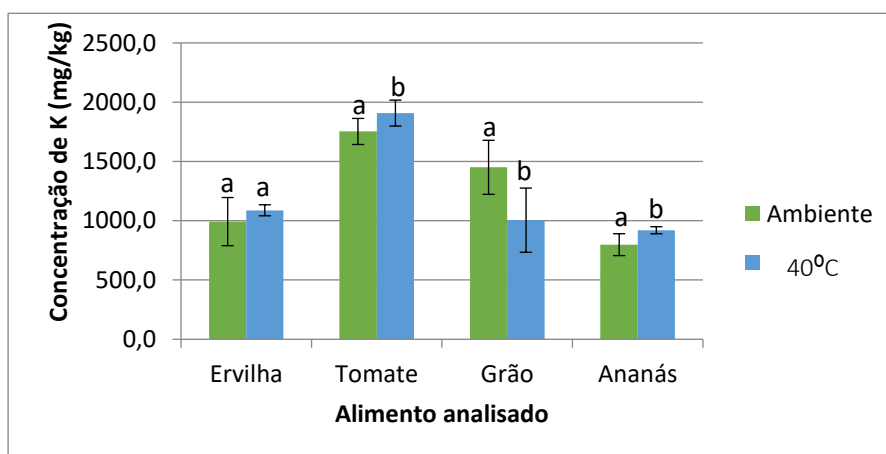


Figura 39- Concentrações de potássio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

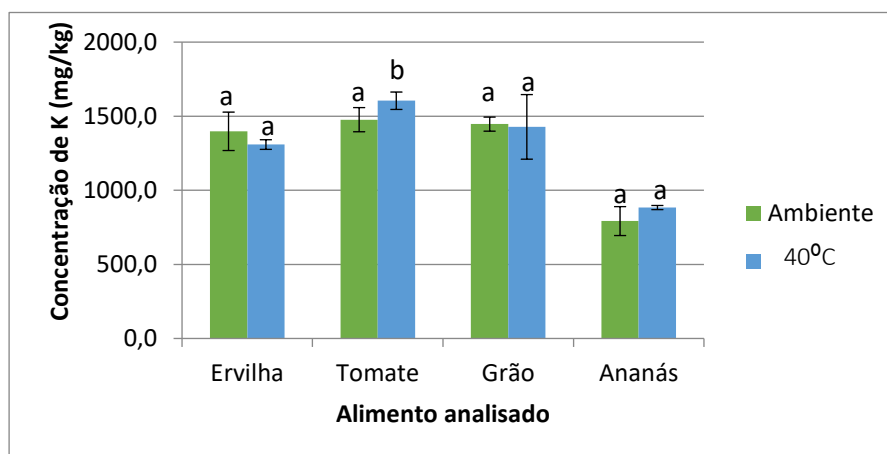


Figura 40- Concentrações de potássio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

Tal como os pontos anteriores e segundo as informações disponibilizadas pelo INSA, o teor em potássio está dentro do esperado para todas as amostras.

A análise estatística comprovou a inexistência de diferenças significativas do teor de potássio nas amostras de ervilhas. Já no caso do tomate, ambas as amostras sólidas e líquidas apresentam valores significativamente diferentes, o que demonstra que estas amostras possuíam características diferentes, isto é, coloca-se de parte a hipótese de migração de potássio da embalagem, visto que o material que a constitui não possui este mineral. Finalmente, para as amostras de grão e de ananás, a análise estatística concluiu existirem diferenças nas amostras sólidas, mas não nas líquidas, o que também pode indiciar a existência de uma constituição diferente entre amostras, mas sem certezas devido à inexistência de amostras líquidas significativamente diferentes que o comprove.

3.2.1.6. Selénio

O selénio possui uma ação antioxidante e anti-inflamatória no organismo, reduz o risco da doença autoimune da tiroide e pode até reduzir o risco de alguns tipos de cancro como o do pulmão ou da próstata (Rayman, 2012)

Para todas as amostras (sólidas e líquidas) analisadas e para ambas as condições de temperatura a que as amostras estiveram expostas, obtiveram-se resultados inferiores ao Limite de Quantificação que era 0,3 mg/kg para as amostras sólidas e 0,03 mg/kg para as amostras líquidas.

3.2.1.7. Sódio

O sódio é um elemento essencial ao funcionamento das células vivas, sendo normalmente consumido quando está ligado ao elemento cloro. Contudo, o consumo excessivo pode levar a um aumento da pressão arterial, sendo um potencial risco de surgimento de doenças cardiovasculares (National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 2017)

Nas figuras 41 e 42, apresenta-se a leitura de sódio das amostras analisadas, em ICP-AES. Apenas no caso das amostras sólidas, obtiveram-se valores abaixo do Limite de Quantificação (LQ – 25 mg/kg) para as amostras de ananás em calda.

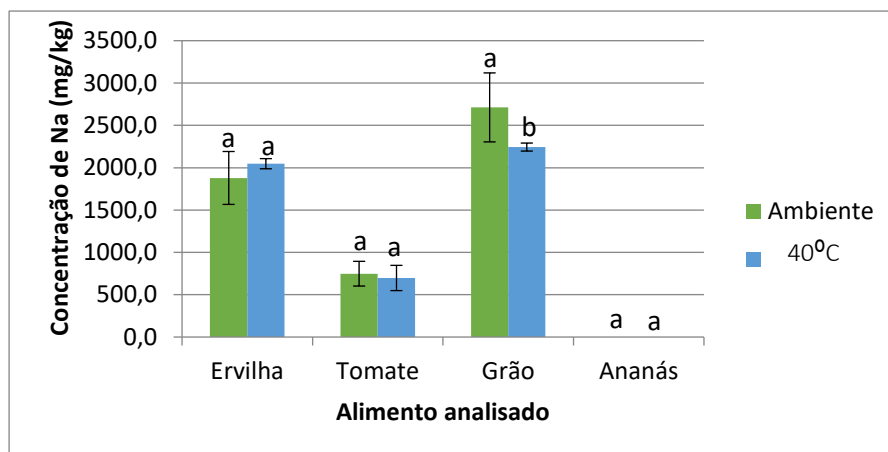


Figura 41- Concentrações de sódio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

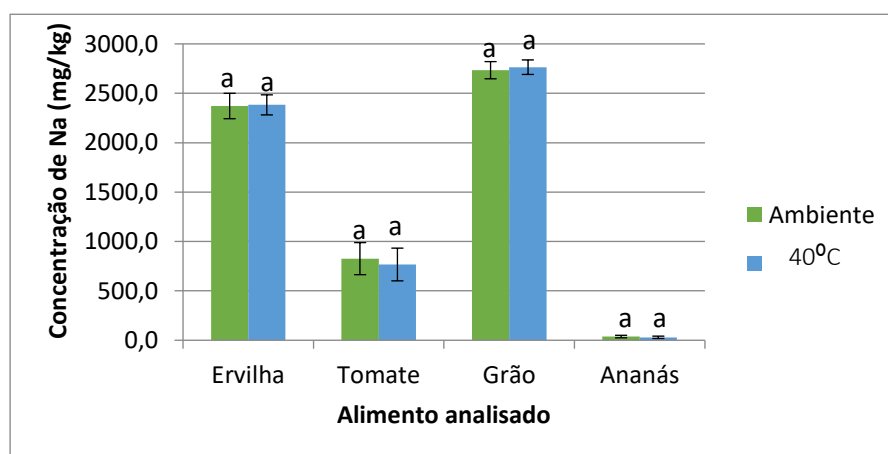


Figura 42- Concentrações de sódio detetadas nas amostras líquidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p<0,05$).

Através da leitura das informações fornecidas pelo INSA, verifica-se que todas as amostras possuem um teor superior de sódio ao que seria de esperar (pelo menos em 50%). Tendo em conta de que não se trata de um comportamento isolado, mas de algo que ocorre em todas as amostras, poderá tratar-se de um erro sistemático. O consumo destes alimentos, fornece já uma dose superior de sódio ao que seria desejável.

Partindo do pressuposto que o teor de sal existente num alimento é 2,5 vezes superior ao seu teor em sódio, é possível verificar se os valores lidos vão aproximadamente de encontro ao que está nos rótulos dos alimentos. Em todos foi verificado que a leitura de valores se aproxima do que é referido nos mesmos, à exceção do ananás pelos motivos enunciados anteriormente.

A análise estatística mostra que a única diferença significativa reside nas amostras sólidas de grão-de-bico, em que o teor em sódio é significativamente superior nas amostras que estiveram à temperatura ambiente, sendo esta diferença devida, à semelhança com os pontos anteriores, com diferenças na constituição dos alimentos resultado de diferenças a nível fisiológico das plantas que os originaram.

3.2.1.8. Vanádio

O vanádio é um mineral muito importante na regulação das atividades metabólicas, sendo que se torna tóxico para o ser humano quando está exposto a grandes quantidades de óxido de vanádio (Rehder, 2013).

Para todas as amostras (sólidas e líquidas) analisadas e para ambas as condições de temperatura a que as amostras estiveram expostas, obtiveram-se resultados inferiores ao Limite de Quantificação que era 0,1 mg/kg para as amostras sólidas e 0,01 mg/kg para as amostras líquidas.

3.2.2. Elementos causadores de potenciais malefícios para o metabolismo humano

3.2.2.1. Arsénio

Quando o arsénio é ingerido em doses elevadas, este pode causar problemas gastrointestinais, cardiovasculares e no sistema nervoso (Quali.pt Segurança Alimentar).

Na figura 43, apresenta-se a leitura de arsénio das amostras de ervilhas e grão sólidas, em ICP-AES. Em todas as restantes obtiveram-se valores abaixo do Limite de Quantificação (LQ Sólidos – 0,80 mg/kg e LQ Líquidos – 0,10 mg/kg).

A análise estatística comprovou o que já era esperado pela observação dos resultados, ou seja, não existem diferenças significativas nos resultados obtidos, o que vai de encontro ao conhecimento anterior sobre a constituição das embalagens.

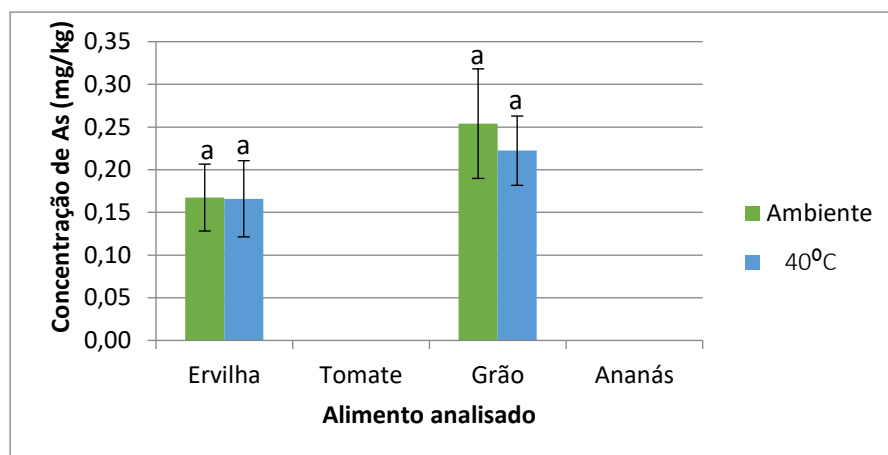


Figura 43- Concentrações de arsênio detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.2.2. Bário

Segundo Savazzi, a presença de bário no plasma sanguíneo diminui a concentração de potássio no sangue, o que pode causar taquicardia, hipertensão ou hipotensão, perda de força nos músculos e até mesmo paralisia.

Na figura 44, apresenta-se a leitura de bário das amostras sólidas, em ICP-AES. Nas amostras líquidas obtiveram-se valores abaixo do Limite de Quantificação (LQ - 0,10 mg/kg).

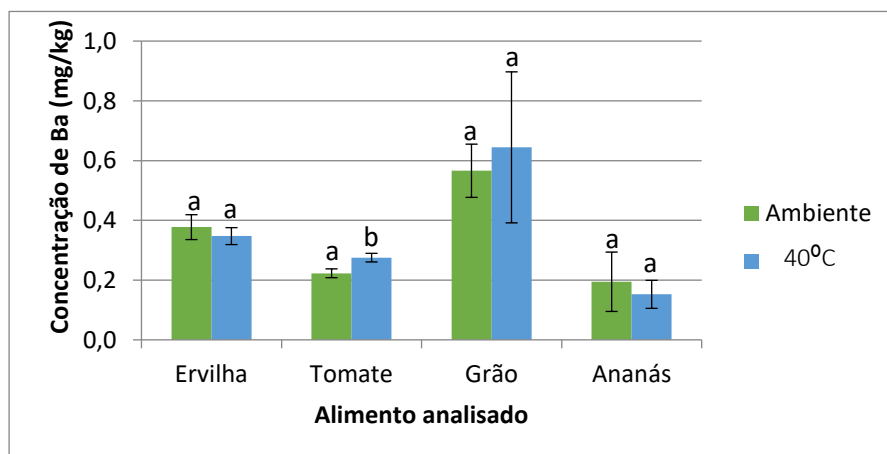


Figura 44- Concentrações de bário detetadas nas amostras sólidas à temperatura ambiente e a 40°C. As barras de erro representam o desvio padrão. Letras diferentes, significam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Através da análise estatística observa-se a existência de um aumento significativo do teor de bário nas amostras de tomate com o aumento da temperatura. Partindo do princípio mais lógico (não existência de bário no material de embalagem),

este aumento parece dever-se à constituição do próprio alimento e não devido a uma migração de bário com o aumento da temperatura.

3.2.2.3. Cobalto

Alves et al, referem que este mineral causa efeitos tóxicos sobretudo ao nível do sistema pulmonar com doenças como a asma e a pele, sendo que isto depende da via a que o consumidor foi exposto a este contaminante.

Para todas as amostras (sólidas e líquidas) analisadas e para ambas as condições de temperatura a que as amostras estiveram expostas, obtiveram-se resultados inferiores ao Limite de Quantificação que era 2 mg/kg para as amostras sólidas e 0,02 mg/kg para as amostras líquidas.

3.2.2.4. Lítio

Segundo Ramalho et al, os efeitos adversos do lítio podem ser de curta ou de longa duração. Se forem de curta duração, tremores, fadiga, náuseas, vômitos, entre outros associados. Caso seja de longa duração, poderão existir problemas ao nível dos rins e da tiroide.

No caso das amostras de lítio, obtiveram-se valores abaixo do Limite de Quantificação nas amostras sólidas e líquidas, à exceção das amostras de ervilhas, tomate e grão que estiveram à temperatura ambiente (mas ainda assim estavam muito próximos de LQ).

Tendo em conta que as restantes estavam abaixo de LQ, não fazia sentido efetuar uma análise estatística aos resultados, visto que estes não são totalmente fiáveis, não sendo por isso possível efetuar uma comparação dos resultados.



CONCLUSÕES

"Todos os homens têm, por natureza, desejo de conhecer"

ARISTÓTELES

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos e que foram apresentados e discutidos no ponto 4 da presente dissertação, foi possível retirar algumas conclusões.

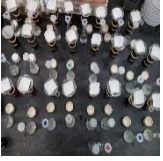
Salvo raras exceções, as amostras que apresentaram um pH mais baixo, ou seja, as amostras de tomate pelado inteiro e ananás em calda, foram as que originaram mais facilmente a ocorrência de migração de metais pesados do material de embalagem para o alimento.

De todos os metais pesados analisados, aqueles em que ocorreu uma migração inequívoca foram o estanho e o ferro. Tal facto pode ser justificado pela constituição do material de embalagem tal como foi referido em 3.1.5 e 3.1.6, ou seja, o material de embalagem é constituído normalmente por uma liga de ferro e estanho que quando está danificada ou em condições de pH mais baixo e/ou a temperaturas mais elevadas pode originar uma migração para o produto constituindo uma fonte de contaminação. O óxido de estanho, quando está presente no sistema, pode inviabilizar o efeito que é pretendido para os filmes orgânicos e, portanto, a proteção que deveria existir entre os materiais de embalagem e os alimentos deixa de estar presente, potenciando uma migração mais rápida destes metais do que seria de esperar. Em outros metais como o manganês houve uma possível migração nas amostras líquidas de grão-de-bico e ananás em calda e, por outro lado. Ocorreu também o caso de as amostras que estiveram à temperatura ambiente apresentarem valores superiores às que estiveram em estufa a 40°C, facto possivelmente justificado pela presença anterior a este estudo dos minerais analisados.

Sempre que possível, os resultados das amostras foram comparados com o Regulamento CE nº 1881/2006 e com o manual *Dietary reference intakes*. Em todas as situações descritas no separador dos *Resultados e Discussão* deste trabalho, as amostras apresentavam teores em metais pesados dentro do legislado e dentro do que são as doses diárias admissíveis de ingestão destes.

Por último, ao longo do ponto 3.2, foi possível observar que para além destes alimentos não fornecerem doses excessivas de metais pesados nocivos para o ser humano, ainda fornece uma quantidade desejável de outros elementos benéficos (como o fósforo, o magnésio, o sódio, entre outros) para o bom funcionamento do metabolismo do consumidor.

Resumindo, os alimentos com pH mais baixo foram os que apresentaram, na maioria das vezes, uma migração mais expressiva com o aumento da temperatura e este facto foi mais observado nos metais pesados que constituem os materiais de embalagem utilizados de uma forma mais comum.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

“O ser humano é aquilo que a educação faz dele.”

IMMANUEL KANT

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbaspour, N.; Hurrell, R.; Kelishadi, R. (2014). *Review on iron and its importance for human health*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3999603/>. Acesso em: 06/01/2018.

Aditivos e Ingredientes (2016). *A Importância dos Minerais na Alimentação*. Disponível em:

http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010514230001453485729.pdf. Acesso em: 28/03/2018.

Ahamed, M.; Siddiqui, M. (2007). *Environmental lead toxicity and nutritional factors*. 1ª edição. Índia: Clinical Nutrition. 9 páginas.

Alves, V. (2016). *Biopolímeros e Embalagem*. 25 Diapositivos. Acessível no Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.

Alves, A.; Rosa, H. (2003). *Exposição ocupacional ao cobalto: aspetos toxicológicos*. 1ª edição. São Paulo: RBCF. 11 páginas.

Aplincourt, M.; Marsal, P.; Prudhomme, J. (1989) *Interactions physico-chimiques entre matériaux d'emballage métallique et constituants alimentaires. Corrosion et protection*. 1ª edição. Paris: Technique et Documentation - Lavoisier. 181 páginas.

Atmaca, G. (2004). *Antioxidant Effects of Sulfur-Containing Amino Acids*. 1ª edição. Turquia: Yonsei Medical Journal. 13 páginas.

Bhutto, A.; Mastoi, A.; Memon, S.; Qureshi, G.; Qureshi, A. (2004). *Magnesium and its essential role in health*. Jamshoro: LUMHS. 3 páginas.

Blunden, S.; Wallace, T. (2003). *Tin in canned food: a review and understanding of occurrence and effect*. Reino Unido: Food and Chemical Toxicology. 12 páginas.

Bo Lönnerdal (2017). *Excess iron intake as a factor in growth, infections, and development of infants and young children*. Disponível em: <http://ajcn.nutrition.org/content/early/2017/10/24/ajcn.117.156042.abstract>. Acesso em: 06/01/2018.

Dantas, S; Saron, E.; Dantas, F.; Gattill, J.; Kiyatakall, P.; Soares, B. (2011). Influência da danificação mecânica de embalagens metálicas na interação com o produto acondicionado: creme de leite. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232011000400006.

Acesso em: 06/01/2018.

Chaves, F. (2016). *Alergia ao níquel: sintomas, alimentos permitidos e proibidos*.

Disponível em: <https://www.greenme.com.br/viver/saude-e-bem-estar/4277-alergia-niquel-sintomas-alimentos>. Acesso em: 07/01/2018.

Chemiasoft (2014). *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)*. Disponível em: <http://www.chemiasoft.com/chemd/node/52>. Acesso em: 07/01/2018.

Ciazzo, F.; Brambilla, L.; Montanari, A.; Mischler, S. (2017). *Chemical and morphological characterization of comercial tinplate for food packaging*. 1ª edição. Suíça: Surface and Interface Analysis. 11 páginas.

Companhia Siderúrgica Nacional (2016). *Folhas Metálicas*. Disponível em: http://www.csn.com.br/conteudo_pti.asp?idioma=0&tipo=61368&conta=45&id=231898.

Acesso em: 05/01/2018.

Costa M.; Klein, C. (2008). *Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans*. 1ª edição. Estados Unidos da América: Critical Reviews in Toxicology. 8 páginas.

European Food Safety Authority (2006) *Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals*. 1ª edição. 482 páginas.

Félix, A. (ano não especificado) *Fichas Toxicológicas*. 1ª edição. Portugal: Departamento de Saúde Pública e Planeamento da ARSCentro. 50 páginas.

Hitachi (2018). *Principle of ICP Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)*. Disponível em:

<https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/icp/descriptions/icp-oes.html>. Acesso em: 07/01/2018.

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2015). *Tabela da Composição de Alimentos (Versão 2.0, de 30/10/2015)*. Disponível em: <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/TabelaAlimentos.aspx>. Acesso em: 08/01/2018.

Kassoufa, A.; Chebiba, H.; Lebbosc N.; Ouainia, R. (2013) *Migration of iron, lead, cadmium and tin from tinplate-coated cans into chickpeas*. 1ª edição. Fanar (Líbano): Taylor & Francis. 7 páginas.

- Kemi, V. (2010) *Effects of dietary phosphorus and calcium-tophosphorus ratio on calcium and boné metabolism in healthy 20- to 43-year-old Finnish women*. Dissertação Académica – Departamento de Ciências Ambientais e Alimentares da Universidade de Helsínquia. Helsínquia – Finlândia. 104 páginas
- Kunst, S.; Rossa, L.; Beltrami; Longhy, M.; Ribeiro, H.; Cardoso, P.; Menezes, T.; Malfatti, C. (2016) *Effect of diisodecyl adipate concentration in hybrid films applied to tinplate*. 1ª edição. Porto Alegre (Brasil): CI&CEQ. 14 páginas.
- Magloff, L. (2017). *Os perigos para a saúde provenientes do estanho*. Disponível em: http://www.ehow.com.br/perigos-saude-provenientes-estanho-info_209634/. Acesso em: 06/01/2018.
- Melville, J. (2014) *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectroscopy*. 1ª edição. Califórnia: UC Berkeley College of Chemistry. 17 páginas.
- Milner, C. (2015). *Zinco: grande aliado nas carências, prejudicial em excesso*. Disponível em: <https://www.epochtimes.com.br/zinco-grande-aliado-carencias-prejudicial-excesso/>. Acesso em: 07/01/2018.
- National Center for Chronic Desiase Prevention and Helth Promotion (2017). *Sodium: the facts*. 1ª edição. Atlanta (EUA): CDC. 2 páginas.
- Padovani, M.; Amaya-far fan, J.; Colugnati, F.; Domene, S. (2006) *Dietary reference intakes: application of tables in nutritional studies*. 1ª edição. Campinas: Revista de Nutrição. 20 páginas.
- Quali.pt Segurança Alimentar (Ano Desconhecido). *Arsénio*. Disponível em: <https://www.quali.pt/contaminantes/1555-arsenio-as>. Acesso em: 29/03/2018.
- Ramalho, A.; Rocha, J.; Fernandes, P. (2015). *Lítio – Do elemento ao fármaco*. Disponível em: <http://litiotoxicologia.wixsite.com/litio/efeitos-adversos> Acesso em: 29/03/2018.
- Rayman, M. (2012) *Selenium and human helth*. 1ª edição. Reino Unido: The Lancet. 13 páginas.
- Rehder, D. (2013) *Vanadium. Its role for humans*. 1ª edição. Hamburgo. 32 páginas.
- Regulamento CE nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006.

Savazzi, E. (2008) *Determinação da presença de Bário, Chumbo e Cobre em amostras de água subterrânea coletada no Aquífero Bauru*. 1ª edição. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. 21 páginas.

Stone, M.; Martyn, L.; Weaver, C. (2016) *Potassium Intake, Bioavailability, Hypertension, and Glucose Control*. 1ª edição. Estados Unidos da América: MDPI. 13 páginas.

Veríssimo, M.; Silva, R.; Gomes, M. (2015) *Iron migration from undamaged and dented juice tinplate cans*. 1ª edição. Aveiro: SCl. 5 páginas.